

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РОССИЙСКИЙ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ ИМ. Р.Р. ВРЕДЕНА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

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

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук
профессор Р.М. Тихилов

Санкт-Петербург – 2016

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	10
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ОБ ЭТИОЛОГИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ, ПРИНЦИПАХ ДИАГНОСТИКИ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ	22
1.1. Пути инфицирования, этиология, патогенез и классификация перипротезной инфекции	24
1.1.1. Классификация перипротезной инфекции.....	26
1.1.2. Факторы риска ППИ	27
1.1.3. Эпидемиология и особенности микробных возбудителей	27
1.1.4. Микробные биопленки, как защитная стратегия бактерий.....	31
1.2. Лабораторно-диагностические возможности выявления ППИ	35
1.2.1. Бактериологические исследования.....	37
1.2.2. Молекулярно-генетические методы.....	39
1.2.3. Исследование микробных биопленок.....	41
1.2.4. Гистологические методы.....	41
1.2.5. Критерии для комплексной диагностики ППИ.....	42
1.3. Основные принципы лечения ППИ	43
1.3.1. Особенности системной антибактериальной терапии стафилококковой ППИ	44
1.3.1.1. Терапия инфекций, вызванных резистентными к метициллину штаммами стафилококков.....	45
1.3.1.2. Место ванкомицина в терапии стафилококковой ППИ	47
1.3.1.3. Возможные альтернативы ванкомицину	48
1.3.2. Возможности локальной антимикробной терапии при лечении ППИ .	50
1.3.2.1. Антимикробные спейсеры для локальной АБТ	52
1.3.2.2. Безопасность локального применения антибиотиков в составе костного цемента	55

1.3.2.3. Проблемы локального применения антибиотиков в составе костного цемента	57
1.3.2.4. Носители антибиотиков на основе натуральной кости.....	60
1.3.2.5. Носители антибиотиков на основе биокерамики.....	62
1.3.2.6. Носители антибиотиков на основе полимеров.....	66
1.3.2.7. Перспективные направления в локальной терапии ППИ	68
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	71
2.1. Общая характеристика пациентов, включенных в исследование	71
2.2. Общая характеристика включенных в исследование бактериальных штаммов	75
2.3. Общая характеристика экспериментальных животных, условия их содержания и проведения экспериментов <i>in vivo</i>	77
2.4. Материалы для фармакоэкономического анализа	78
2.5. Клинико-лабораторные методы исследования пациентов с ППИ	80
2.5.1. Гематологические и биохимические методы исследований.....	80
2.5.2. Лучевые методы исследования.....	82
2.5.3. Бактериологические методы исследования.....	84
2.6. Тактика лечения пациентов с ППИ.....	86
2.7. Экспериментальные <i>in vitro</i> методы исследования.....	89
2.7.1. Методика <i>in vitro</i> определения степени биопленкообразования (БПО) у клинических штаммов <i>Staphylococcus spp.</i>	90
2.7.2. Методика исследования чувствительности к антибиотикам планктонных и sessильных форм клинических штаммов <i>S. aureus</i>	91
2.7.2.1. Оценка действия антибиотиков на зрелые микробные биопленки	92
2.7.2.2. Оценка действия антибиотиков на процесс формирования биопленки стафилококками	92
2.7.3. Оценка синергидного взаимодействия комбинаций антибиотиков в отношении штаммов <i>S. aureus</i>	93
2.7.3.1. Метод «шахматной доски»	93
2.7.3.2. Метод кинетических кривых гибели/роста бактерий	95

2.7.4. Определение длительности антимикробной активности образцов костного цемента	97
2.8 Экспериментальные <i>in vivo</i> методы исследований	98
2.8.1. Экспериментальная модель <i>in vivo</i> для изучения динамики клинικο-морфологических изменений при развитии стафилококковой имплантат-ассоциированной инфекции.....	98
2.8.2. Экспериментальная модель <i>in vivo</i> для оценки эффективности профилактики имплантат-ассоциированной инфекции при локальном использовании разработанной антимикробной композиции	101
2.8.3. Клинико-лабораторные, бактериологические и патоморфологические исследования, используемые в экспериментах <i>in vivo</i>	103
2.9. Методы фармакоэкономического анализа	105
2.9.1. Исследование потребления антибактериальных препаратов методом ABC — анализа	105
2.9.2. DDD-анализ.....	106
2.9.3. Клинико-экономический анализ эффективности лечения ППИ	108
2.9.3.1. Расчет «стоимости болезни».....	108
2.9.3.2. Анализ эффективности затрат при изучении влияния различных взаимоисключающих факторов при лечении пациентов с ППИ.....	109
2.10. Регистрация полученных результатов и статистическая обработка данных и количественных результатов.....	111
ГЛАВА 3. РОЛЬ СТАФИЛОКОККОВ В ЭТИОЛОГИИ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ, ПРОФИЛЬ ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ И ВЛИЯНИЕ МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ	113
3.1. Доля представителей <i>Staphylococcus</i> spp. в спектре возбудителей инфекции протезированных суставов.....	114
3.2. Антибактериальная резистентность штаммов <i>S. aureus</i> и <i>S. epidermidis</i> – ведущих возбудителей ППИ.....	115
3.2.1. Метициллинорезистентность изолятов <i>Staphylococcus</i> spp.....	115

3.2.2. Профиль резистентности штаммов <i>S. aureus</i> и <i>S. epidermidis</i> к антибиотикам за период 2007–2009 гг.....	117
3.2.3. Профиль антибиотикорезистентности штаммов <i>S. aureus</i> и <i>S. epidermidis</i> с учетом устойчивости к метициллину в 2010-2014 гг.....	119
3.2.4 Динамика уровня антибиотикорезистентности штаммов <i>S. aureus</i> и <i>S. epidermidis</i> за период 2010–2012 гг.	121
3.2.5. МИК ванкомицина в отношении клинических штаммов MRSA и MRSE, возбудителей инфекции протезированных суставов.....	124
3.3. Микробные ассоциации при перипротезной инфекции	125
3.4. Спектр и антибиотикорезистентность энтерококков и грамотрицательных возбудителей	130
3.4.1. Антибактериальная резистентность <i>Enterococcus</i> spp.	131
3.4.2 Антибактериальная резистентность <i>P. aeruginosa</i>	132
3.4.3 Антибактериальная резистентность <i>A. baumannii</i>	133
3.4.4 Антибактериальная резистентность <i>Enterobacteriaceae</i> spp.	134
3.5. Влияние микробных ассоциаций на результаты санирующей операции с удалением эндопротеза и установкой спейсера	136
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СТАФИЛОКОККОВЫХ МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК.....	143
4.1. Результаты оценки способности к биопленкообразованию у клинических штаммов <i>Staphylococcus</i> spp.	143
4.1.1. Эпидемиологическая характеристика выборки штаммов	144
4.1.2. Результаты скрининга способности биопленкообразования клинических штаммов <i>Staphylococcus</i> spp.....	145
4.2. Результаты исследования воздействия сывороточных концентраций антибиотиков на формирование биопленок у клинических штаммов MRSA, возбудителей инфекции протезированных суставов	148
4.2.1. Эффективность ванкомицина в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков.....	152

4.2.3. Эффективность линезолида в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков	153
4.2.4. Эффективность рифампицина в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков	154
4.2.5. Эффективность фосфомицина в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков	155
4.2.6. Эффективность моксифлоксацина в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков	156
4.2.7. Эффективность ко-тримоксазола в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков	157
4.2.8. Эффективность гентамицина в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков	158
4.2.9. Особенности чувствительности теституемых штаммов к антибиотикам в зависимости от формы их существования.....	159
4.3. Результаты исследования комбинированного действия сывороточных концентраций исследуемых антибиотиков с моксифлоксацином на формирование биопленок клиническими штаммами MRSA	161
4.3.1 Результаты анализа значений ОП после совместной инкубации антибиотиков в комбинации с моксифлоксацином на планктонные и сессильные формы MRSA-изолятов	162
4.3.2. Результаты анализа сравнительной эффективности антибиотиков и их комбинаций с моксифлоксацином в отношении планктонных форм штаммов MRSA <i>in vitro</i>	163
4.3.3. Оценка эффективности ванкомицина и даптомицина в комбинации с моксифлоксацином в отношении планктонных форм штаммов MRSA в зависимости от уровня МИК по ванкомицину	165
4.3.4 Оценка эффективности сывороточных концентраций антибиотиков в комбинации с моксифлоксацином в отношении планктонных форм штаммов MRSA в зависимости от способности к биопленкообразованию (БПО)	167

4.3.5. Результаты сравнительного анализа эффективности АБ-комбинаций в отношении сессильных и планктонных форм MRSA	170
4.3.6. Эффективность антимикробных комбинаций в отношении зрелых биопленок MRSA в зависимости от уровня их чувствительности к ванкомицину	173
4.3.7. Эффективность антимикробных комбинаций в отношении зрелых биопленок MRSA, в зависимости от их способности к БПО	175
ГЛАВА 5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СПОСОБОВ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛОКАЛЬНОЙ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ	
177	
5.1. Преодоление резистентности у штаммов <i>S. aureus</i> путем применения субтерапевтических концентраций антимикробных препаратов в эксперименте <i>in vitro</i>	177
5.2. Динамика клинико-морфологических изменений при развитии имплантат-ассоциированной инфекции, обусловленной <i>S. epidermidis</i> , в экспериментальной модели <i>in vivo</i>	183
5.3. Эффективность профилактики имплантат-ассоциированной инфекции при локальном использовании разработанной антимикробной композиции в эксперименте <i>in vivo</i>	191
5.4. Антимикробная активность образцов импрегнированного антибиотиками костного цемента в эксперименте <i>in vitro</i>	197
5.5. Резюме.....	198
ГЛАВА 6. ОБОСНОВАНИЕ СИСТЕМЫ МЕР ПО ОПТИМИЗАЦИИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ ОБЛАСТИ ТАЗОБЕДРЕННОГО ИЛИ КОЛЕННОГО СУСТАВА	
200	
6.1 Рекомендации по эмпирической и этиотропной системной антибактериальной терапии ППИ.....	201
6.2. Разработанные способы повышения эффективности локальной антибактериальной терапии.....	208
6.3. Система мер по оптимизации АБТ пациентов с ППИ	209

ГЛАВА 7. РЕЗУЛЬТАТЫ ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПОТРЕБЛЕНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ	212
7.1. Результаты фармакоэкономического анализа	212
7.1.1. Влияние научно обоснованных рекомендаций по антимикробной терапии ППИ на уровень потребления антибиотиков и финансовые затраты ЛПУ на данную группу препаратов	212
7.1.2. Динамика финансовых затрат на антибиотики и динамика уровня их потребления в специализированном отделении гнойной хирургии за 2007– 2014 гг.	216
7.1.2.1. Динамика потребления бета-лактамных антибиотиков	218
7.1.2.2. Динамика потребления антибиотиков из группы фторхинолонов.....	221
7.1.2.3. Динамика потребления антибиотиков с антистафилококковым эффектом из других групп	223
7.1.2.4. Динамика потребления антибиотиков с других групп	225
7.1.3. Оценка влияния потребления антибиотиков на частоту выделения метициллинорезистентных штаммов стафилококков	226
7.2. Клинико-экономическая эффективность лечения ППИ.....	228
7.2.1. Результаты клинико-экономического анализа эффективности лечения при различной хирургической тактике санации у пациентов с ППИ.....	228
7.2.1.1. Расчет «стоимости болезни» пациентов с ППИ после ЭП ТБС или КС в зависимости от хирургической тактики санации гнойного очага	231
7.2.2. Результаты клинико-экономической оценки эффективности санирующей операции с удалением эндопротеза у пациентов с ППИ в зависимости от характера возбудителя.....	234
7.2.3. Результаты клинико-экономической оценки эффективности санирующей операции с установкой спейсера у пациентов с ППИ в зависимости от характера стартовой антибактериальной терапии	236
7.2.4. Результаты клинико-экономической оценки эффективности санирующей операции у пациентов с ППИ в зависимости от локального использования антимикробной композиции	238

7.2.5. Результаты клинико-экономической оценки эффективности санирующей операции у пациентов с ППИ в зависимости от добавленного в костный цемент антибиотика.....	245
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	257
ВЫВОДЫ	272
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	275
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	278
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	280

ВВЕДЕНИЕ

Эндопротезирование крупных суставов конечностей – одно из самых выдающихся достижений не только ортопедии, но и хирургии минувшего столетия в целом (Amstutz H.C., 2000). Потребность в замещении крупных суставов и, в первую очередь тазобедренного, возрастает в связи с увеличением доли пожилых людей в популяции, что является характерной демографической тенденцией нашего времени (Steinberg D.R., Steinberg M.E., 2000). Артропластика указанных суставов обеспечивает улучшение качества жизни больных, поэтому снижение числа послеоперационных осложнений – одна из ведущих задач современной ортопедии (Корнилов Н.В. с соавт., 1997, Allami M.K. et al., 2005).

Основной и наиболее затратной проблемой с социально значимыми потерями при эндопротезировании крупных суставов конечностей является развитие инфекционных осложнений (Тихилов Р.М. с соавт., 2014, Borrego A.F. et al., 2007). За последнее десятилетие, несмотря на использование новых инструментов, постоянное совершенствование техники оперативных вмешательств, применение современных антисептиков и дезинфектантов при эндопротезировании тазобедренного (ТБС) или коленного (КС) суставов сохраняется риск развития инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ), которую в случаях развития глубокой ИОХВ называют также перипротезной инфекцией (ППИ).

Несмотря на относительно невысокую частоту развития перипротезной инфекции после первичного эндопротезирования (0,3–2,2%), в случаях повторных (ревизионных) операций риск развития ППИ возрастает в несколько раз, достигая 5,9–13,6% (Тихилов Р.М. Шаповалов В.М., 2008; Pulido L. et al., 2008; Phillips J.E. et al., 2006; Puhto A et al., 2012; Lichstein P. et al., 2014). При этом, частота рецидивов при лечении уже существующей ППИ составляет 23,2–31,5% (Lie SA et al., 2004). Развитие инфекционных осложнений после эндопротезирования, как правило, заканчивается развитием хронических заболеваний, таких как остеомиелит (Клюшин Н.М. с соавт. 2015) , в редких случаях – амилоидоз почек

(Nishimura S. et al., 2014), что в конечном итоге ведет к инвалидизации больного, а в случае генерализации инфекции может привести к сепсису и к летальному исходу. Во многом, это обусловлено отсутствием специфических диагностических критериев, патогномоничных для перипротезной инфекции, и недостаточной изученностью чувствительности и специфичности комбинаций лабораторных показателей (Середа А.П. с соавт., 2014).

Количество эндопротезирований крупных суставов конечностей постоянно растет: в 2003 году США было выполнено 220000 операций по замене тазобедренного сустава, а к 2030 году планируется ежегодно выполнять около 572 000 таких вмешательств (Lee K., Goodman S.B, 2008). Поэтому с учетом указанной общемировой тенденции в ближайшие годы ожидается существенное увеличение абсолютного числа пациентов с перипротезной инфекцией, что неизбежно приведет к постоянному увеличению финансовых затрат на лечение этого серьезного осложнения. В Великобритании на лечение одного пациента тратят \$30–\$50 тысяч (Matthews P.C. et al., 2009). В США расходы на борьбу с перипротезной инфекцией в 2009 году составили \$566 млн., а к 2020 году их рост прогнозируют до \$1,62 млрд. (Kurtz S. et al., 2008).

По данным Health Protection Agency, за период с 1997 по 2005 год на долю *S. aureus* приходится 41,4% возбудителей ИОХВ после эндопротезирования тазобедренного, 33,5% – после эндопротезирования коленного сустава, 53% – при открытых переломах костей и 59,1% – при однополюсном эндопротезировании тазобедренного сустава после перелома шейки бедренной кости. При указанных патологиях удельный вес коагулазонегативных стафилококков (КНС) составил, соответственно, 15,1%, 20,7%, 7,5% и 6,3% среди всех выделенных штаммов (U.K. Health Protection Agency, 2008).

Наиболее часто из КНС при различных типах инфекций, включая остеомиелит и перипротезную инфекцию, высеивается *S. epidermidis*, реже выделяют другие *Staphylococcus* spp.: *S. simulans*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. caprae* и *S. lugdunensis* (Greig J.M. Wood M.J., 2003; Vallianou N. et al., 2008). Распространенность инфекций, вызываемых КНС, обусловлена не столько их

вирулентностью, сколько большим числом восприимчивых больных с ослабленным иммунитетом. Несмотря на то, что КНС относят к маловирулентным микроорганизмам, они обладают важными факторами вирулентности – капсульными и другими адгезинами, обеспечивающими прикрепление микроорганизмов к белкам внеклеточного матрикса (фибриногену, фибронектину и др.). Выпадение данных белков и их отложение практически на всех имплантатах, в том числе и на поверхности эндопротеза, создает благоприятные условия для адгезии стафилококков и для формирования микробной биопленки (Gristina A. et al, 1988). Наиболее проблемными для подбора эффективной антибактериальной терапии и лечения ППИ являются метициллинорезистентные 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).

В биопленках за счет снижения доступа антимикробного препарата, а также за счет перераспределения генов антибиотикорезистентности через внеклеточную ДНК и/или прямую передачу генов из клетки в клетку, микроорганизмы обладают повышенной выживаемостью в присутствии антибиотиков (Тец В.В., 2006, Zimmerli W. et al., 2013). По-видимому, именно это свойство приводит к тому, что при инфекции протезированного сустава санация гнойного очага без удаления компонентов эндопротеза, как правило, неэффективна даже на фоне этиотропной АБТ, и в последующем зачастую приводит к рецидиву гнойно-септического процесса.

Лечение перипротезной инфекции, также как и инфекций, ассоциированных с любыми другими ортопедическими конструкциями (пластины, винты, гвозди и т.д.) требует высоких локальных концентраций антибиотиков в области инфекционного очага. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) – показатель, характеризующий чувствительность микроорганизма к конкретному антибиотику. МИК определяют только для планктонных форм бактерий, и данный показатель не отражает чувствительность к антибиотикам сессильных форм возбудителей.

Минимальные концентрации антибиотиков для эрадикации биопленок (МВЕС, minimum biofilm eradication concentration) зачастую превышают МИК в тысячу раз (Olson M. et al., 2002; Wu Wen-Shiann et al., 2013) и не могут быть достигнуты путем системного введения антимикробных препаратов без развития токсического действия (Привольнев В.В. и соавт., 2012). К примеру, для высоких доз аминогликозидных антибиотиков или ванкомицина характерно развитие нефротоксичности. Альтернативой системному введению больших доз антибиотиков является комбинация системной и местной антибактериальной терапии. Считается, что антибиотик, высвобождающийся из спейсера непосредственно в очаге инфекции, оказывает разрушающее действие на микробные биопленки, тем самым облегчая работу для антибиотиков, применяемых системно. Кроме того, высокая локальная концентрация позволяет препаратам проникать в некротизированные ткани и участки с плохим кровоснабжением путем диффузии (Silverman L.D., 2007). В последние годы появилась возможность создавать высокие концентрации антибактериальных препаратов в костной ткани с помощью специальных остеозамещающих материалов, содержащих антибиотики.

В настоящее время применение импрегнированных антибиотиком цементных спейсеров на основе полиметилметакрилата (ПММА) является золотым стандартом в лечении инфекции после эндопротезирования крупных суставов (Мурылев В.Ю. с соавт., 2013; Ахтямов И.В. с соавт. 2014; Langlais F., 2003; Corona P.S. et al., 2014). Наиболее часто во всем мире используют гентамицин и ванкомицин. Однако ванкомицин характеризуется узким спектром действия, включающим только грамположительные возбудители, а обладающий широким спектром активности гентамицин в современных условиях возрастающей резистентности практически утратил свое значение в лечении имплантат-ассоциированных инфекций, обусловленных метициллинорезистентными стафилококками и клебсиеллой. На элюцию антибиотика из спейсера существенно влияют вязкость и пористость костного цемента (Meyer J. et al., 2011), а высвобождение малого количества

антибактериального препарата не позволяет достичь его эффективных концентраций в зоне оперативного вмешательства, не препятствует формированию микробных биопленок на самом цементном спейсере и вызывает у микробных возбудителей развитие резистентности (Tunney M.M. et al., 2007).

Анализ научной медицинской литературы показал, что до настоящего времени во многом нерешенной в травматологии и ортопедии остается проблема повышения эффективности антибактериальной терапии при перипротезной инфекции стафилококковой этиологии с учетом особенностей патогенеза данного осложнения, в основе которого лежит формирование микробных биопленок. Большинство опубликованных работ носит только экспериментальный характер. Во многом это обусловлено трудностью подбора пациентов с ППИ в сопоставимые группы из-за влияния многочисленных факторов на течение инфекционного процесса, ассоциированного с ортопедическими имплантатами. В литературе 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, изучение всех возможных 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 и 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 результатах 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 saniрующего 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 β -лактамных антибиотиков 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 saniрующей операции по поводу перипротезной инфекции, обусловленной ассоциациями стафилококков с другими патогенными микроорганизмами, позволило рекомендовать после saniрующей 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 санлирующей 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 антимицробной композиции, а также дополнительную импрегнацию фосфомицином гентамицин-содержащих цементных спейсеров, сохраняют антимицробную 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 антибактериальной терапии 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 области исследования в паспорте специальности 14.01.15 – «Травматология и ортопедия».

Личный вклад автора

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, для чего проведен критический анализ отечественной и зарубежной литературы с оценкой актуальности выбранной темы диссертационного исследования, определением проблемных вопросов и путей их решения. Самостоятельно выполнены патентно-информационный поиск и подготовка заявок на изобретения, составлены исследовательские протоколы, сформирована компьютерная база собранных материалов исследования, проведена статистическая обработка полученных количественных данных, осуществлена интеграция и интерпретация основных результатов проведенных 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 тазобедренного или коленного сустава 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 чтения» (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 (ЕССМID, Милан, 2011, Берлин, 2013); 34-м Всемирном ортопедическом конгрессе Международного общества травматологов-ортопедов (SICOT, Хайдерабад, 2013); 32-й, 33-й и 34-ой Конференции Европейского общества инфекции костей и составов (ЕВJIS, 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-ой 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 перипротезной инфекции в «Руководстве по хирургии тазобедренного сустава».

Материалы диссертации используются также 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.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ОБ ЭТИОЛОГИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ, ПРИНЦИПАХ ДИАГНОСТИКИ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ (обзор литературы)

За последнее десятилетие, несмотря на использование новых инструментов, постоянного совершенствования эндопротезов и техники оперативного вмешательства, применение современных антисептиков, дезинфектантов и антибактериальных средств при эндопротезировании тазобедренных (ТБС) или коленных суставов (КС) сохраняется риск развития инфекционных осложнений. По данным зарубежных авторов частота инфекции протезированного сустава или перипротезной инфекции (ППИ) после первичного эндопротезирования составляет 0,3–3,0% (Phillips C.V. et al., 2003, 5th Report of the Mandatory Surveillance, 2010; Bauer T.W. et al., 2006). По данным отечественных авторов, частота ревизионных операций после первичного эндопротезирования тазобедренного сустава, выполненного за период 2007–2012 гг., составила в среднем 2,5% при анализе 11 648 операций (Тихилов Р.М. с соавт., 2013). Другие авторы приводят различные данные по величине данного показателя: от 1 до 5% (Пичхадзе И.М. с соавт., 2009; Ежов И.Ю. с соавт., 2010; Слободской А.Б. с соавт. 2011). К. Ong с соавторами показали, что в течение 2-х лет после эндопротезирования частота развития ППИ составляет 1,63%, в период с 3-го по 10-й годы – 0,59% (Ong K. et al., 2009).

Выполнение ревизионных операций повышает частоту развития инфекционных осложнений до 2,6–4,8%. Развитие рецидивов инфекции среди пациентов, перенесших ревизионные операции по поводу инфекционного процесса, отмечается в 23,2–31,5% (Lie SA et al., 2004). Также частота перипротезной инфекции может повышаться до 25,6% в случае многократных ревизий. По данным S. Jafari с соавторами (2010), после ревизионной операции при асептических процессах 5-летняя выживаемость эндопротеза составляет 84,8%, если поводом ревизии служит инфекционный процесс в области

хирургического вмешательства, то данный показатель составляет только 67% (Jafari SM et al. 2010). В шведском регистре эндопротезирования перипротезная инфекция (14,6%) в качестве причины ревизии стоит на втором месте после нестабильности имплантатов (57,7%) и перед рецидивирующими вывихами. Такие же соотношения отражены в большинстве национальных и международных регистрах эндопротезов.

Инфекционные осложнения при эндопротезировании могут приводить к развитию хронического остеомиелита и в конечном итоге — к инвалидизации больного (Ключин Н.М. с соавт., 2015), а в случае генерализации инфекции и развитии синдрома системной воспалительной реакции или сепсиса — к летальному исходу. Кроме того, длительно текущая хроническая инфекция костей может приводить к таким осложнениям, как амилоидоз почек, дистрофические изменения паренхиматозных органов и развитие септико-пиемических очагов (Nishimura S. et al., 2014).

Число эндопротезирований суставов постоянно растет: 2003 г. в США было выполнено 220 000 операций по замене ТБС, в 2030 году планируется выполнить около 572 000 аналогичных операций (Lee K., Goodman S.B, 2008). Таким образом, с учетом общей тенденции к увеличению числа выполняемых эндопротезирований во всем мире, нас ожидает увеличение абсолютного количества пациентов с перипротезной инфекцией, что будет требовать постоянного увеличения финансовых затрат на лечение этого серьезного осложнения. При этом стоимость лечения перипротезной инфекции в несколько раз превосходит стоимость самой первичной операции (March L. et al., 2002; Vozic K.J. et al., 2005), так в Великобритании стоимость лечения перипротезной инфекции у одного пациента составляет 30–50 тысяч долларов (Matthews P.C. et al., 2009). В США затраты на лечение перипротезной инфекции увеличились с 320 млн. долларов в 2001 г. до 566 млн. в 2009 г., при этом по прогнозам к 2020 г. они могут достигнуть 1,620 млрд. долларов (Kurtz S.M. et al., 2012). Своевременная диагностика инфекции протезированного сустава может быть затруднена, так как симптомы могут быть различными, а диагностические тесты во многом неспецифичны (Zimmerli W. et

al., 2004). Кроме того, надо учитывать, что в большинстве ЛПУ количество таких случаев крайне мало и врачи не имеют опыта диагностики и лечения инфекции протезированного сустава. При этом поздняя диагностика перипротезной инфекции может привести к снижению функции сустава, увеличению объема инфицированных тканей. В итоге, возникает потребность в более сложных хирургических вмешательствах, иногда с рецидивами инфекционного процесса, приводящими к многократным ревизионным вмешательствам.

1.1. Пути инфицирования, этиология, патогенез и классификация перипротезной инфекции

Инфекция протезированных суставов делится на раннюю (развившуюся в течение 3 месяцев после установки эндопротеза), отсроченную (3–12 месяцев после установки) и позднюю (более чем 12 месяцев после имплантации). Ранняя и отсроченная инфекция, как правило, вызываются микроорганизмами, попавшими в рану во время хирургического вмешательства, в то время как позднее инфицирование оперированного сустава вызывается гематогенным путем. В настоящее время выделяют несколько путей инфицирования области установки эндопротеза: интраоперационно – прямая колонизация инородных материалов через рану или воздух, отсроченная – гематогенным или лимфогенным путем из отдаленных очагов инфекций (мочевыводящие пути, верхние и нижние дыхательные пути и т.д.), прямая контаминация и активация дремлющей инфекции, как результат прямого контакта с очагом инфекции (остеомиелит) или через ткани организма (инфицированная рана, гематома, диабетическая язва) (Hernigou Ph. et al., 2010).

Возможны 2 пути развития патологического процесса в результате интраоперационной контаминации при неэффективности периоперационной антимикробной профилактики. Это редко встречающееся в настоящее время развитие острой послеоперационной инфекции, когда инфекционный процесс

развивается в раннем послеоперационном периоде и затрагивает только мягкие ткани, проявляясь выраженной лихорадкой и признаками воспаления послеоперационной раны. При этом прогноз, при оказании своевременной помощи, как правило, благоприятный и протез удастся сохранить. Другим путем развития может быть латентное течение инфекционного процесса, которое может в течение длительного времени проявляться только нарушением функции протезированного сустава и с течением времени в процесс может вовлекаться и костная ткань (Hope P.G. et al., 1989).

Отсроченная контаминация представляет собой гематогенное или эндолимфатическое инфицирование эндопротеза из отдаленного очага хронической или острой инфекции, имеющегося в организме (Maderazo E.G., et al., 1988). Диагностическим критерием данного механизма является выделение одного и того же возбудителя из разных очагов инфекции. Риск колонизации имплантата увеличивается при развитии синовита в ответ на развившийся в результате изнашивания эндопротеза металлоз. Как правило, отсроченная контаминация происходит через несколько лет нормального функционирования оперированного сустава, при этом клинические проявления перипротезной инфекции могут развиваться на фоне или после обострения в удаленном очаге хронической инфекции или при развитии острого инфекционного процесса. Чаще всего источником контаминации имплантата являются кожные инфекции (рожистое воспаление, целлюлит, диабетическая стопа), инфекции дыхательных путей, периодонта и мочевыводящих путей (Maderazo E.G., et al., 1988). Однако данный механизм может запускаться и в раннем послеоперационном периоде на фоне развития пневмонии, пиелонефрита или катетер-ассоциированной инфекции.

Ранняя инфекция часто проявляется системными и местными признаками острой инфекции – лихорадкой, лейкоцитозом, болью, гипертермией, отеком, гиперемией в области хирургического вмешательства. В случае отсутствия адекватного лечения инфекция может перейти в хроническое течение. Кроме того, возможно развитие бактериемии и сепсиса. Поздняя инфекция может

манифестироваться появлением периодических болей в суставе. Иногда развитие болей в оперированном суставе, сопровождается образованием свищевого хода и оттоком гнойного отделяемого, в таких случаях диагноз перипротезной инфекции не составляет затруднений. Поздняя инфекция, протекающая с признаками острого инфекционного процесса, может быть ассоциирована с системной воспалительной реакцией или сепсисом.

1.1.1. Классификация перипротезной инфекции

В зависимости от времени манифестации и механизма инфицирования перипротезную инфекцию подразделяют в соответствии с классификацией D.T. Tsukayama на 4 типа: острую послеоперационную, позднюю хроническую, острую гематогенную (отсроченную) параэндопротезную инфекцию и положительную интраоперационную культуру (Tsukayama D.T., 1996.). В настоящее время данная классификация является наиболее распространенной и именно на ее основе определяется хирургическая тактика ведения пациента с перипротезной инфекцией.

Острая послеоперационная перипротезная инфекция (I тип) развивается в результате интраоперационной контаминации в течение первых 4-х недель после операции (Tsukayama D.T., 1996.). К поздней хронической инфекции (II тип) относят ППИ, манифестация которой происходит в срок от 30 дней до года после первичной операции. В этиологии инфекции II типа часто принимают участие низковирулентные микроорганизмы, к которым относят КНС или *Propionibacterium* spp., которые контаминируют рану во время операции, однако вследствие их низкой вирулентности симптомы осложнения возникают позже, часто на фоне ослабления иммунитета (Morray B.F. et al., 2003). Острая гематогенная инфекция (III тип) развивается через год и более после эндопротезирования на фоне наличия острого или хронического очага инфекции. В настоящее время, в случае, когда источник инфицирования установлен, инфекцию считают острой гематогенной, а при невозможности определить удаленный источник инфекции – острой отсроченной (Morray B.F. et al., 2003). К

IV типу инфекции относят бессимптомную колонизацию поверхности эндопротеза, выявленную во время ревизионной операции.

1.1.2. Факторы риска ППИ

К основным факторам риска перипротезной инфекции в настоящее время относят предшествующие операции на суставах (эндопротезирование, артропластика и т.д.) (Zimmerli W., 2006), любые ИОХВ в анамнезе, онкологические заболевания, старческий возраст, инфекционный артрит в анамнезе, ожирение или сниженное питание, заболевания кожи, ревматоидный артрит, предыдущие операции на тазобедренном суставе, нарушения свертываемости крови, дооперационная анемия, сахарный диабет, а также имеющуюся иммуносупрессию любой этиологии (Wilson M. et al, 1990; Verbari E., 1998; Bozic K.J. et al., 2012; Perka C. and Haas N., 2011). Развившаяся в раннем послеоперационном периоде поверхностная инфекция области хирургического вмешательства может быть индикатором последующего вовлечения имплантата в инфекционный процесс (Verbari E., 1998). Частота последующего вовлечения протезированного сустава в инфекционный процесс при бактериемии *S. aureus* может достигать 34% (Murdoch D. et al., 2001).

1.1.3. Эпидемиология и особенности микробных возбудителей

Основными возбудителями перипротезной инфекции, также как и инфекции костей и суставов в целом, являются грамположительные кокки. Многие десятилетия в фокусе пристального внимания ученых и врачей всего мира находится *S. aureus*. Во многом это обусловлено его способностью продуцировать значительное количество факторов вирулентности, таких как поверхностные белки, способствующие колонизации тканей, полисахаридная капсула, белок А, каротиноиды, каталазу, токсины, экзотоксины и другие (Сидоренко С.В., 2003).

По данным зарубежных национальных исследований в 37%–67% случаев инфекционного артрита выделяют стафилококки, главным образом, *S. aureus* (Ryan M.J. et al., 1997; Goldenberg D.L., 1998; Dubost J.J. et al., 2002; Al Arfaj A.S., 2008). Коагулазонегативные стафилококки реже изолируют при инфекциях суставов: от 3% до 16% всех культур *Staphylococcus* spp. Бактериологические исследования костных биоптатов при остеомиелитах показали, что частота выделения *S. aureus* составила 38–71,4% случаев всех положительных культур, коагулазонегативных стафилококков (КНС) – 5–15% (Клюшин Н.М. с соавт., 2014; Blyth M.J. et al., 2001; Arnold S.R. et al., 2006; Grammatico L. et al., 2008). Как видно по представленным данным частота выделения стафилококков при инфекционных артритах сопоставима с аналогичным показателем при остеомиелитах. По данным Health Protection Agency за период с 1997 по 2005 год частота выделения *S. aureus* при развитии инфекции области хирургического вмешательства составила 41,4% после эндопротезирования тазобедренного, 33,5% после эндопротезирования коленного сустава, 53% при открытых переломах костей и 59,1% при однополюсном эндопротезировании тазобедренного сустава после перелома шейки бедренной кости. Частота выделения КНС – 15,1%, 20,7%, 7,5% и 6,3% при указанных патологиях, соответственно (U.K. Health Protection Agency, 2008). По мнению G.D. Ehrlich с соавторами (2004) *S. aureus* и *S. epidermidis* являются возбудителями 90% случаев ППИ. Чаще всего из КНС при многих типах инфекций, включая остеомиелит и перипротезную инфекцию, встречается *S. epidermidis*, но могут быть и *S. simulans*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. caprae* и *S. lugdunensis* (Murdoch D.R. et al., 1996; Lang S. et al., 1999; Greig J.M. and Wood M.J., 2003; Vallianou N. et al., 2008). Представители КНС, главным образом, *S. epidermidis*, в отличие от *S. aureus*, обладают минимальным набором факторов вирулентности. Кроме того, являясь комменсалами, они в значительном количестве населяют кожные покровы и слизистые оболочки организма (Fey P.D., Olson M.E., 2010), в связи с чем, до недавнего времени, штаммы *S. epidermidis*, выделенные при бактериологической диагностике инфекционных осложнений, расценивали как контаминанты, а не возбудители. Только в последнее

десятилетие появилось понимание истинной роли указанных возбудителей и их значения в развитии послеоперационных инфекционных осложнений, в частности, ППИ и других инфекций, ассоциированных с ортопедическими имплантатами. При отсутствии повреждения кожных покровов и компенсированном состоянии иммунной системы организм успешно противостоит развитию инфекций, обусловленных стафилококками. Однако, в условиях травмы, в том числе хирургической, стресса на фоне тяжелой операции, к которым относят эндопротезирование суставов и реконструктивные операции на костях, условно-патогенные микроорганизмы проявляют свои вирулентные свойства и вызывают развитие гнойно-септических инфекций. Отягощает проблему массивная кровопотеря, усугубляющая снижение иммунореактивности.

Все более широкое использование различных медицинских изделий и устройств, внедряемых в организм человека, привело к накоплению большого количества фактов, свидетельствующих о причастности *S. epidermidis* к биоматериал-ассоциированным инфекциям. В результате ряда исследований было показано, что способность *S. epidermidis* образовывать биопленки, является мощным фактором вирулентности, определяющим на сегодняшний день лидерство *S. epidermidis* в этиологии инфекций, ассоциированных с ортопедическими имплантатами (Ziebuhr W., 2006; Schoenfelder S.M., 2010). Некоторые исследователи в структуре ведущих возбудителей перипротезной инфекции отдают ведущую роль именно коагулазонегативным стафилококкам (30–43%), затем следуют *S. aureus* (12–23%) (Corvec S. et al., 2012).

Теми немногими факторами вирулентности, которыми обладают КНС, являются капсульные и другие адгезины, обеспечивающие прикрепление микроорганизмов к белкам внеклеточного матрикса (фибриногену, фибронектину и др.). Отложение данных белков практически на всех имплантатах создает благоприятные условия для адгезии стафилококков и формирования биопленки на поверхности эндопротеза (Gristina A. et al., 1988). Микроорганизмы в составе биопленок обладают повышенной выживаемостью в присутствии антибиотиков как за счет снижения доступа препарата, так и перераспределения генов

антибиотикорезистентности через внеклеточную ДНК и/или прямую передачу генов из клетки в клетку (Тец В.В., 2006; Zimmerli W. et al., 2004). По-видимому, именно это свойство приводит к тому, что, санация гнойного очага при перипротезной инфекции без удаления компонентов эндопротеза, как правило, неэффективна даже на фоне этиотропной АБТ, и зачастую в последующем приводит к рецидиву гнойно-септического процесса.

Стрептококки и энтерококки встречаются в среднем в 10% случаев инфекции протезированных суставов. При этом надо отметить, что при развитии клинически выраженной инфекции энтерококки могут участвовать в ее начальной стадии в составе микробных ассоциаций, индуцируя воспалительную реакцию при синергидных взаимодействиях с другими микроорганизмами, в дальнейшем не влияя на течение процесса (Сидоренко С.В., 2003; Eaton T.J. and Gasson M.J., 2001).

Грамотрицательные микроорганизмы существенно реже вызывают развитие перипротезной инфекции. В 8–17% случаев возбудителями ППИ могут быть грамотрицательные бактерии: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp. (Moran E. et al., 2007; Marculescu C.E. and Cantey J.R., 2008; Martínez-Pastor J.C. et al., 2009; Corvec S. et al., 2012). В 10–30% случаев культивировать микроорганизмы невозможно (Corvec S. et al., 2012), что связывают в основном с трудностью культивирования и приемом антибиотиков до взятия проб.

Британские исследователи (Moran E. et al., 2007) считают, что резистентные возбудители и полимикробная этиология характерна для инфекций, развивающихся в первые три месяца после установки эндопротеза. По данным других авторов ранние и отсроченные перипротезные инфекции вызываются преимущественно эпидермальными стафилококками и развиваются в результате интра- и послеоперационной контаминации или вследствие контактного распространения с инфицированной кожи, подкожных тканей, мышц или послеоперационной гематомы (Goldenberg D.L, 1998), а поздние, обусловленные гематогенным путем диссеминации, вызываются *S. aureus*, *Streptococcus* spp.,

Enterococcus spp., грамотрицательными аэробами и ассоциациями микроорганизмов (Marculescu С.Е. and Cantey J.R., 2008).

1.1.4. Микробные биопленки, как защитная стратегия бактерий

В последние десятилетия, благодаря исследованиям ученых в разных областях науки, удалось в значительной мере выяснить причины столь высокой неэффективности антимикробной терапии инфекционных осложнений, возникающих в ортопедической имплантологии крупных суставов. Во многом это связывают со способностью микробных возбудителей перипротезной инфекции, в частности представителей рода *Staphylococcus*, формировать на имплантатах биопленки. Существование в форме биопленок можно рассматривать как эффективную защитную стратегию бактерий. Микроорганизмы в составе биопленок (сессильные формы), характеризуются множественной антибиотикорезистентностью и устойчивостью к воздействию иммунной системы (Raja A.F. et al., 2011). До настоящего времени причины сниженной чувствительности сессильных форм бактерий остаются предметом дискуссий. В условиях организма экзополисахаридный матрикс биопленки защищает бактерии от фагоцитоза нейтрофилами, стимулирует моноциты для создания простагландина E, который подавляет пролиферацию Т-лимфоцитов, В-лимфоцитарный бластогенез, производство иммуноглобулинов и хемотаксис (de Naas С.Ј. et al., 2004, Nymer M. et al., 2008). В клинических условиях это приводит к хронизации инфекционного процесса.

Бактериальная колонизация любого имплантата осуществляется в несколько этапов. Первый этап прикрепления (адгезии) бактерий к абиотическим поверхностям происходит в результате физико-химических взаимодействий (электростатических, сил поверхностного натяжения, сил Ваан-дер-Ваальса, гидрофобных и водородных связей) (Dunne W.M., 2003).

На сегодняшний день общепризнанно, что ведущая роль в этиологии перипротезной инфекций принадлежит двум видам стафилококков: *S. aureus* и *S.*

epidermidis, что во многом обусловлено именно их способностью быстро формировать многоуровневые микробные биопленки на поверхности искусственных имплантатов (Barberán J, 2006, Brady R. A. et al., 2009). Этот процесс у стафилококков детерминируется продукцией внеклеточной субстанции – полисахаридного межклеточного адгезина и других представленных на поверхности микробных клеток факторов, которые способствуют адгезии бактерий к имплантатам и последующему образованию многослойных клеточных кластеров, дающих начало образованию биопленок.

Данные микроорганизмы активно взаимодействуют с фибронектином, фибриногеном, коллагеном, покрывающими конструкции эндопротеза немедленно после их имплантации. Эффективность первичной адгезии может изменяться при отложении на поверхностях имплантата сывороточных белков или продуктов их деградации. Первичная адгезия, как правило, обратима. Вторичная (специфическая) адгезия практически необратима. Для реализации данного этапа формирования биопленки необходима экспрессия генов, репрессированных у планктонных форм бактерий, которая начинается в течение 10 мин после первичной адгезии. После специфической адгезии единичных клеток начинается процесс созревания биопленки: пролиферация микробных клеток, формирование гликокаликса и образование трехмерной структуры (Davey M.E. and O'Toole G.A., 2000; Shirtliff M.E. et al., 2002). Созревание биопленки регулируется феноменом «quorum sensing», который представляет собой процесс межклеточного общения бактерий, включающий продукцию аутоиндукторов, способных при определенных концентрациях индуцировать функцию различных генов (De Kievit T.R. and Iglewski, B.H., 2003; Hentzer M. et al., 2004). Аутоиндукторы (низкомолекулярные соединения) синтезируются бактериями постоянно, однако, при малой популяции бактериальных клеток и, следовательно, при низкой концентрации аутоиндукторов их эффекты не проявляются и созревания биопленки не происходит. В случае увеличения бактериальной популяции локальная концентрация аутоиндукторов возрастает и после превышения критического порога запускается индукция («включение») ряда

генов, к которым относятся гены вирулентности и гены, ответственные за формирование биопленок. По-видимому, именно на данном этапе важна роль эффективной антибактериальной профилактики, основной целью которой является снижение интраоперационной микробной контаминации раны до безопасного уровня (De Kievit T.R. and Iglewski V.H., 2003; Hentzer M. et al., 2004).

На этапе зрелой биопленки периодически в ее различных участках происходит гидролиз гликокаликса, переключение части бактерий с сессильного на планктонный фенотип и их высвобождение в окружающую среду. Это процесс, скорее всего, также регулируется системами «quorum sensing» (Hentzer M. et al., 2004). В результате механического отрыва фрагментов биопленки также возможна диссеминация бактерий в другие места организма.

Планктонные клетки характеризуются быстрой пролиферацией и распространением в новые локусы организма, в то время как для сессильных – характерна «оседлость», специализация функций внутри биопленки и высокая фенотипическая резистентность, обусловленная медленным ростом с измененной физиологией и сниженным метаболизмом (Jiang X., Pace J.L., 2006), что повышает устойчивость бактерий к антимикробным препаратам. Кроме того, биопленки могут представлять собой постоянный источник персистирующих микробных клеток, время от времени высвобождающихся из матрикса биопленки и диссеминирующих в окружающие сустав и отдаленные ткани макроорганизма (Raja A.F. et al., 2011). Таким образом, совокупность указанных факторов существенно затрудняет лечение и приводит к хронизации инфекции (Weigel L.M. et al., 2007; Rudelli S. et al., 2008; Zimmerli W. et al., 2012).

Существование микроорганизмов в составе биопленок затрудняет диагностику имплантат-ассоциированной инфекции и снижает эффективность антибактериальной терапии. У пациентов с наличием эндопротеза или других металлоконструкций низкая информативность дооперационной бактериологической диагностики перипротезной инфекции обусловлена тем, что в исследуемом аспирате могут отсутствовать планктонные формы возбудителя,

тогда как на поверхности имплантата сформирована биопленка с прочно внедренными в нее инфекционными агентами (Zimmerli W., 2006).

Устойчивость к антибактериальным препаратам sessильных форм бактерий обусловлена сложными и до конца нерасшифрованными механизмами, однако, для практической медицины именно это явление имеет фундаментальное значение. Микробные биоплёнки обладают свойством множественной антибиотикорезистентности, т.е. устойчивостью к антибиотикам из разных групп (Weigel L.M. et al., 2007). В клинических условиях это приводит к хронизации инфекционного процесса. До настоящего времени причины сниженной восприимчивости sessильных форм бактерий являются предметом дискуссий.

Одной из причин высокой резистентности sessильных (био пленочных) форм бактерий считают ограничение диффузии антибактериальных препаратов и питательных веществ в глубокие отделы биопленки. Одни экспериментальные данные показывают, что гликокаликс не является серьезным препятствием для антибиотиков. Так молекулы рифампицина, фторхинолона и бета-лактамов проникают в самые глубокие отделы биопленки за несколько секунд (Zheng Z. and Stewart P.S., 2002). Аминогликозиды проникают в глубокие отделы биопленок несколько хуже из-за их связывания полисахаридами гликокаликса. Таким образом, объяснить высокий уровень антибиотикорезистентности sessильных форм бактерий только сниженной проницаемостью биопленок для антибиотиков нельзя (Stewart P.S., 2003). Другие исследования демонстрируют, что слизь, продуцируемая некоторыми патогенами, заполняя межклеточное пространство в биоплёнках, обладает связывающим антибиотик действием. Установлено подавление активности гликопептидов (ванкомицина, тейкопланина) и β -лактамов (оксациллина, цефотаксима) в опытах со слизистым матриксом, вырабатываемым штаммами *S. epidermidis* и *S. aureus* (Mathur T. et al., 2005; Singh R. et al., 2010).

Питательные вещества, углеводы и кислород из-за потребления и связывания в поверхностных слоях биопленки не проникают в глубокие слои, где создаются анаэробные условия, которые ограничивают пролиферацию бактерий и, как следствие, делают их устойчивыми к антибиотикам, активность которых

проявляется, в основном, в отношении делящихся микроорганизмов (Anderl JN et al., 2003; Borriello G., et al., 2004; Roberts M.E. and Stewart P.S., 2004). Интерес представляет и тот факт, что сессильные формы бактерий мало восприимчивы к антибиотикам, активность которых не зависит от темпа роста микробной популяции, что может быть связано с другим механизмом резистентности, а именно, с существованием в биоплёнках особых персистирующих форм бактерий или персистеров. Персистер – это фенотипический вариант клеток с сильно заторможенным метаболизмом, так называемым «бактериальным анабиозом» (Гостев В.В., Сидоренко С.В., 2010). В разных биоплёнках количество персистеров варьирует от 1 до 10% (Льюис К., 2005). Механизм действия антибиотиков связан с угнетением жизненно важных для бактерий метаболических процессов, которые в клетках-персистерах ингибированы, за счет чего последние оказываются недоступны действию антимикробных агентов.

В настоящее время среди нозокомиальных штаммов *S. epidermidis* выявлено лишь ограниченное число эпидемических клонов, основная часть которых принадлежит большому клональному комплексу CC2 (Fey P.D., Olson M.E., 2010). Эти изоляты являются носителями различных генных кассет *SCCmec*, детерминирующих метициллинорезистентность, а также характеризуются выраженной способностью формировать биопленки, в том числе, на изделиях медицинского назначения, что также можно отнести к одному из механизмов неспецифической резистентности (Schoenfelder S.M. et al., 2010). Кроме того, по мнению некоторых исследователей *S. epidermidis* может представлять собой резервуар генов, которые в результате горизонтального переноса, увеличивают патогенный потенциал *S. aureus* (Bloemendaal A.L.A. et al., 2010; Otto M., 2013).

1.2. Лабораторно-диагностические возможности выявления ППИ

Диагностика перипротезной инфекции, особенно при ее хроническом течении требует настороженности и профессионализма врача, так как никаких специфических симптомов нет (Leone, S. et al., 2010; Levy, P.Y. et al., 2012), а

длительное течение инфекционного процесса может приводить к деструктивным изменениям костной ткани и остеомиелиту, что существенно ухудшает прогноз эффективности лечения.

Рентгенологическое обследование при развитии перипротезной инфекции в раннем послеоперационном периоде, как правило, диагностически незначимо, но может помочь исключить другие заболевания сустава. При хронической инфекции рентгенография может показывать расшатывание компонентов эндопротеза, однако, как правило, при отсутствии остеомиелита по одной рентгенологической картине очень затруднительно провести дифференциальную диагностику между инфекционным процессом и асептическим расшатыванием компонентов эндопротеза (Trampuz A., Zimmerli W., 2008). Признаки расшатывания эндопротеза, выявленные на ранних сроках после установки протеза, могут служить косвенным признаком инфекционной природы патологического процесса. За инфекционную этиологию патологического процесса свидетельствуют наличие лейкоцитоза, повышение уровня С-реактивного белка (СРБ), положительные культуры крови, аспирата из области установки эндопротеза, биоптатов окружающих эндопротез тканей, а также результаты гистологического исследования.

Из рутинных лабораторных тестов могут помочь в диагностике инфекционного процесса: повышенный уровень СРБ и наличие лейкоцитоза. Но данные показатели, как правило, непоказательны в раннем послеоперационном периоде (около 2 недель после вмешательства). Ряд исследователей считают, что низкий уровень СРБ может помочь исключить диагноз инфекции, так Fink et al. (2008) указывают, что при развитии поздней инфекции протезированных суставов уровень СРБ ниже 13,5 мг/л в 88,5% свидетельствует об отсутствии инфекционного процесса, а его превышение только в 59,2% случаев подтверждает наличие инфекции. Однако надо учитывать, что нормальные показатели крови не исключают наличие инфекции (Schinsky M.F. et al., 2008), а отклонения в их уровне неспецифичны для перипротезной инфекции и могут быть проявлениями инфекционного процесса любой локализации или другого патологического

процесса (к примеру, обострения ревматоидного артрита) (Середа А.П. с соавт., 2014). По мнению Н.М. Ключина с соавторами (2014) мониторинг уровня СРБ и СОЭ в раннем послеоперационном периоде после санитизирующей операции может помочь в ранней диагностике рецидива ППИ.

Сегодня появляются данные о возможности использования относительно новых маркеров воспаления, таких как интерлейкин 6 (IL-6), прокальцитонин, для диагностики ППИ. Несмотря на то, что исследование IL-6 считают перспективным, его определение пока не рекомендуют к использованию в рутинной практике (Середа А.П. с соавт., 2014; Verbari E.F. et al., 2010). Прокальцитонин рассматривается, как возможный эффективный тест для диагностики инфекционных осложнений в раннем послеоперационном периоде (Hunziker S. et al., 2010), однако надо помнить, что это достаточно дорогой тест для использования его в рутинной практике при отсутствии подозрения на генерализацию инфекции и сепсиса.

Ультразвуковое исследование может показать наличие скопления жидкости в зоне установки эндопротеза, которую необходимо пунктировать или выполнить биопсию тканей и отправить на гистологическое и бактериологическое исследования. Использование радионуклидной диагностики с использованием сульфата технеция 99 позволяет выявить скопление лейкоцитов с точностью 88–98%, однако, этот метод требует специализированных условий, дорогостоящего оборудования и в настоящее время мало используется (Palestro C.J. et al., 2006). В тоже время пункция и/или биопсия показывают наиболее успешные результаты в диагностике ППИ.

1.2.1. Бактериологические исследования

При наличии признаков острой инфекции забор крови и аспирата из области хирургического вмешательства на микроскопию и бактериологическое исследование должен быть выполнен до назначения антибактериальной терапии (Osmon D.R. et al., 2013). При наличии признаков генерализации инфекции

эмпирическую АБТ следует назначать незамедлительно после взятия биоматериала с дальнейшей коррекцией после получения результатов посева.

При хронической инфекции пункцию лучше проводить под местной анестезией под контролем ультразвука. Чувствительность данного метода по данным литературы широко варьирует от 12 до 100%. Некоторые исследователи рекомендуют выполнение перипротезной биопсии под флюороскопическим контролем, что позволяет при хронических инфекциях увеличить вероятность забора биоптата из области с самой высокой плотностью микроорганизмов (граница кости и цемента или кости и протеза) (Fink V. et al., 2008). Выполненные артроскопически биопсии синовиальной оболочки из нескольких локализаций могут помочь в диагностике перипротезной инфекции после эндопротезирования коленного сустава.

Если пациент в течение 3 месяцев до операции получал АБТ, то высока вероятность отсутствия роста микроорганизмов в аспирате, биоптате и/или интраоперационном материале. Для улучшения диагностики при отсутствии признаков генерализации инфекционного процесса необходимо избегать назначения терапии до окончания бактериологического исследования. Нет точных рекомендаций по срокам отмены антибиотиков и забора биоматериала для микробиологического исследования для диагностики перипротезной инфекции, обычно это составляет 10–14 суток (Verbari E. et al., 1998), минимальный период от отмены до взятия биоматериала составляет 48 часов (Bygen I. et al., 2009).

Диагноз инфекции окончательно устанавливается в результате комбинации клинических признаков, результатов гистологического и/или микробиологического исследования тканевых биоптатов. Во время ревизионной операции образцы тканей необходимо брать из нескольких локализаций. Рост одного штамма микроорганизма из трех и более локализаций с высокой корреляцией связан с развитием инфекции (Atkins B. et al., 1998). Специалисты рекомендуют брать пять различных образцов тканей, используя отдельные инструменты, чтобы уменьшить возможность ложноположительного результата из-за перекрестной контаминации (Pandey R. et al., 2000).

Как правило, рост штамма возбудителя ППИ наблюдается в течение 5 суток, однако для ряда микроорганизмов требуется более длительная инкубация (*Propionibacterium* spp. и *Corynebacterium* spp.). Ряд исследователей считают, что в течение первой недели выделяются только 73,6% возбудителей, остальные могут прорасти только на второй неделе инкубации (Schäfer P. et al., 2008). Ультразвуковая обработка удаленных имплантатов за счет разрушения микробных биопленок может увеличивать частоту выделения микроорганизмов при перипротезной инфекции, особенно у пациентов, которые недавно получали антибактериальную терапию. Данный метод по чувствительности сопоставим с бактериологическим исследованием большого количества тканевых биоптатов (Trampuz A. et al., 2007). Микробиологическое исследование инкубационной жидкости после ультразвуковой обработки удаленных спейсеров, при выполнении 2 этапа двухэтапного ревизионного эндопротезирования, позволяет дополнительно выявить латентную инфекцию почти в 20% случаев (Sorlí L. et al., 2012). Совместное применение микробиологического исследования удаленных конструкций и множественных тканевых биоптатов значительно повышает шансы на постановку микробиологического диагноза (Holinka J. et al., 2011).

1.2.2. Молекулярно-генетические методы

Возможно проведение идентификации возбудителей ППИ методами ПЦР-анализа, однако, до настоящего времени они не продемонстрировали существенного преимущества перед культуральными методами исследования (Fenollar F. et al. Roux V. 2006; Achermann Y. et al., 2010). Существенным ограничением применения ПЦР для выявления возбудителя инфекции в клинике является необходимость определения его антибиотикочувствительности на уровне фенотипа. Безусловно, одновременно с определением возбудителя методом ПЦР возможно и выявление присутствующих в его геноме генов антибиотикорезистентности. Но само по себе наличие/отсутствие у возбудителя генов антибиотикорезистентности далеко не всегда коррелирует с его

фенотипической устойчивостью/чувствительностью к антибиотикам. При этом необходимость определять чувствительность бактерий бактериологическими методами, влечет за собой необходимость культивирования возбудителя, что практически сводит на нет смысл применения ПЦР для идентификации возбудителя инфекции. Еще одной сложностью при трактовке результатов молекулярных методов, использующих различные техники, является установление клинической значимости выделенных изолятов, что крайне затруднительно ввиду очень высокой чувствительности этих методов. Таким образом, молекулярные методы диагностики необходимо рассматривать не как замену бактериологического исследования, а скорее как вспомогательный инструмент, когда, к примеру, отрицательный результат исследования дооперационного аспирата методом ПЦР при подозрении на перипротезную инфекцию у пациента с признаками нестабильности эндопротеза может ускорить принятие решения о проведении ревизионного эндопротезирования до получения результатов бактериологического исследования. В то же время, при положительном результате ПЦР-анализа, например, выявлении метициллинорезистентного или метициллиночувствительного штамма *S. aureus* (MRSA или MSSA) и необходимости в срочном порядке выполнить saniрующую операцию, антибиотикотерапия может быть назначена до результатов бактериологического исследования, поскольку существуют схемы антибактериальной терапии, рекомендованные для лечения ортопедических инфекций, вызванных MRSA или MSSA (Osmon D.R. et al., 2013). Кроме того, диагностика методом ПЦР может быть полезна для выявления трудно- или некультивируемых микроорганизмов при клинической картине инфекции и отрицательных результатах бактериологических анализов. Однако до настоящего времени именно культуральный метод остается ключевым для выделения и идентификации возбудителя. Он незаменим для определения чувствительности возбудителя к антибактериальным препаратам и подтверждения результатов молекулярных исследований.

1.2.3. Исследование микробных биопленок

К настоящему времени разработано множество *in vitro* и *in vivo* методик, позволяющих исследовать формирование микробных биопленок у различных возбудителей (Merritt O.H. et al., 2011). Наиболее распространенной является методика с использованием 96-луночных микропланшет (Christensen G.D. et al., 1985), которая позволяет спектрофотометрически оценить способность к формированию биопленки у различных штаммов микроорганизмов. Разработан ряд систем, позволяющих отслеживать динамику роста микробных биопленок, в том числе при воздействии на них антимикробных агентов. Многие исследователи используют такие методы визуализации как сканирующая электронная, конфокальная лазерная микроскопия. Надо отметить, что большинство предлагаемых методов используется только в научных целях, так как они не адаптированы для использования в широкой клинической практике, как правило, трудоемки и требуют специального оборудования и расходных материалов.

1.2.4. Гистологические методы

В соответствии с международными критериями гистопатологическая диагностика является составной частью диагностики перипротезной инфекции (Krenn V. et al., 2014; Zmistowski B. et al., 2014). Основу данного метода составляет оценка типа воспаления, которая может быть качественной (грануломатозное/негрануломатозное) или количественной – с подсчетом количества нейтрофильных гранулоцитов (Krenn V. et al., 2014), при этом последняя методика приобретает все большее значение в диагностике ППИ (Wienert S. et al., 2012; Wienert S. et al., 2013). В ряде публикаций показано наличие прямой корреляционной связи между количеством нейтрофильных гранулоцитов и наличием бактериальной инфекции, определены диагностические критерии для данной патологии (Morawietz L. et al., 2009; Fink B. et al., 2013).

Одним из наиболее ценных диагностических тестов для подтверждения наличия инфекционного процесса является интраоперационное гистопатологическое исследование замороженных образцов параэндопротезных тканей. В публикациях, где диагностическим порогом было обнаружение 5–10 нейтрофильных лейкоцитов в поле зрения, чувствительность для диагностики инфекции составила 50–93% при специфичности 97–100% (Ko P.S. et al., 2005; Borrego F.A. et al., 2007; Nunez L.V. et al., 2007). Согласно рекомендациям IDSA интраоперационную гистологию целесообразно выполнять во время ревизионного вмешательства, если диагноз инфекции все еще сомнителен и результат исследования повлияет на выбор хирургической тактики. Например, на выбор между одно- и двухэтапным ревизионным эндопротезированием (Osmon D.R. et al., 2013).

1.2.5. Критерии для комплексной диагностики ППИ

Исходя из того, что в настоящее время не существует единственного «золотого стандарта» для выявления перипротезной инфекции, J. Parvizi (2011) предложил использовать комбинацию различных тестов, сочетание которых позволяет увеличить достоверность диагностики. Существующие критерии были разделены на «большие» и «малые». Диагноз ППИ может быть установлен при выявлении одного «большого» или 4-х из 6-ти «малых» признаков. К «большим» критериям относят наличие свищевого хода, сообщающегося с эндопротезом, и выделение возбудителя из 2-х и более образцов тканей или аспирата из области установки имплантата. К «малым» критериям – повышение лабораторных показателей: СОЭ > 30 мм/ч и СРБ > 10 мг/л, повышение количества лейкоцитов в синовиальной жидкости, повышение доли нейтрофилов в синовиальной жидкости, наличие гнойного воспаления в пораженном суставе, выделение возбудителя из одного образца ткани или суставной жидкости, выявление более 5 нейтрофилов в каждом поле зрения (ув. X 400) при гистологическом исследовании перипротезной ткани (Parvizi J., 2011).

До настоящего времени диагностика перипротезной инфекции остаётся достаточно сложным вопросом практической ортопедии. Несмотря на множество предлагаемых диагностических критериев, единые общепринятые стандарты для постановки диагноза отсутствуют. Использование разных диагностических критериев значительно осложняет сравнение данных, полученных в различных исследованиях, и выработку оптимальной тактики лечения (Parvizi J. et al., 2011).

1.3. Основные принципы лечения ППИ

Успешное лечение перипротезной инфекции включает комбинацию адекватной хирургической тактики и этиотропной АБТ, активной в отношении возбудителей данного инфекционного процесса. Наиболее частыми причинами хронизации инфекции являются выбор неверной хирургической тактики и/или нерациональное применение антибиотиков. В связи с тем, что возбудитель при ППИ присутствует не в планктонной форме, а в составе биопленки на поверхности имплантата, как уже говорилось выше, микробы снижают свой метаболизм, у них замедляется скорость деления, в результате чего бактерии становятся более устойчивы к антибиотикам и факторам иммунной защиты организма. Если образование биоплёнки достигло определённой стадии, то справиться с инфекцией можно только путём удаления или замены инфицированного эндопротеза. Однако в зависимости от состояния пациента, сопутствующей патологии, длительности и тяжести инфекционного процесса могут быть различные варианты: длительный курс антибактериальной терапии без хирургической санации, санация гнойного очага с сохранением эндопротеза на фоне АБТ (в основном при ранней ППИ), одно- или двухэтапное хирургическое вмешательство с удалением и последующей заменой эндопротеза, в некоторых случаях – ампутация конечности (Zimmerli W., Ochsner P.E., 2003). Наряду с качеством санации гнойного очага длительная этиотропная АБ-терапия является одной из важных составляющих успеха в лечении ППИ.

1.3.1. Особенности системной антибактериальной терапии стафилококковой ППИ

К основным свойствам «идеального» антибиотика для лечения перипротезной инфекции, помимо его эффективности в отношении возбудителя у конкретного пациента, можно отнести его бактерицидное действие, создание высоких концентраций в кости и мягких тканях, высокий профиль безопасности, возможность длительной пероральной терапии. Однако в настоящее время для большинства из указанных параметров отсутствуют не только доказательная база по клиническому применению при перипротезной инфекции, но и экспериментальные работы (Geipel U., 2009).

Оптимальным вариантом при планировании эмпирической антибактериальной терапии является выбор препарата или их комбинации, которая перекрывает весь спектр возможных возбудителей. Как было показано выше, наиболее частыми этиологическими агентами инфекции области хирургического вмешательства в травматологии и ортопедии являются грамположительные микроорганизмы (стафилококки и энтерококки), при этом антимикробная терапия наиболее эффективна только в сочетании с хирургическим лечением, т.к. наличие имплантата на фоне развивающегося гнойно-септического процесса является дополнительным фактором риска как генерализации, так и хронизации инфекции (Рак А.В. с соавт., 2006).

Известно, что среди всех групп антибиотиков в большинстве случаев β -лактамы составляют основу терапии стафилококковых инфекций, при этом аминопенициллины, цефалоспорины I–II поколения и карбапенемы обладают практически такой же антистафилококковой активностью как и пенициллин. До настоящего времени цефалоспорины I поколения (цефазолин) активно применяют для антимикробной профилактики в травматологии и ортопедии (Прохоренко В.М. с соавт., 2008). Развитие устойчивости стафилококков к препаратам данной группы связано либо с продукцией β -лактамаз, либо с наличием дополнительного пенициллино-связывающего белка (ПСБ2а) (Белобородов, 2003; Gold et al., 1996).

1.3.1.1. Терапия инфекций, вызванных резистентными к метициллину штаммами стафилококков

При выборе препаратов для антибактериальной терапии необходимо учитывать наличие перекрестной резистентности. Штаммы *Staphylococcus* spp., обладающие ПСБ2а, клинически устойчивы ко всем β -лактамным антибактериальным препаратам. Маркером наличия ПСБ2а является устойчивость к оксациллину и метициллину. Метициллин в настоящее время в клинической практике и в лабораторной диагностике не применяется, его вытеснил оксациллин, однако, термин "оксациллинорезистентность", является полным синонимом термина "метициллинорезистентность". Распространенность штаммов MRSA в России высока. Несмотря на то, что по данным многоцентрового исследования в структуре бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций за 2011–2012 гг. доля *S. aureus* составила 16,7%, что сопоставимо с данными 2006–2008 гг. (19,5%), существенно увеличилась значимость метициллинорезистентных штаммов данного возбудителя. Доля MRSA, составляла 33,4% в 2001–2002 гг. и 55,4% в 2006–2008 гг., возросла до 66,9% к 2011–2012 гг. (Сухорукова М.В. с соавт., 2014). Выделение метициллинорезистентных штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* из гнойного очага при перипротезной инфекции является неблагоприятным прогностическим признаком для эффективности антибактериальной терапии и лечения в целом (Гольник В.Н. с соавт., 2012), так как длительное введение ванкомицина или прием линезолида в амбулаторных условиях представляется крайне затруднительным. Сохранившие активность рифампицин и фузидиевую кислоту для достижения хорошего антистафилококкового эффекта необходимо сочетать с β -лактамами или фторхинолонами (Aboltins С.А. et al., 2007). Большинство зарубежных исследователей предлагают широко использовать рифампицин, в том числе, в сочетании с гликопептидами или линезолидом, в составе комбинированной терапии перипротезных инфекций стафилококковой этиологии для усиления бактерицидного эффекта, воздействия на микробные биопленки и на клетки бактерий, расположенные в макрофагах (табл.1.1).

Комбинации антибиотиков, эффективные в отношении метициллинорезистентных стафилококков (по данным научной литературы)

Исследуемая комбинация	Преимущества по сравнению с монотерапией
Ко-тримоксазол и ванкомицин	Активность в отношении внутриклеточно расположенных стафилококков (Yamaoka T., 2007)
Рифампицин и ванкомицин	Активность в отношении расположенных внутриклеточно и в составе микробной пленки стафилококков (Rose W.E., Poppens P.T., 2008; Yamaoka T., 2007)
Рифампицин и даптомицин или линезолид или тигециклин	Активность в отношении стафилококковых биопленок (Yin L.Y. et al., 2005; Raad I. et al., 2007)
Рифампицин и ко-тримоксазол или фторхинолон или фузидиевая кислота	Клиническая эффективность при лечении инфекции протезированных суставов стафилококковой этиологии. Эрадикация возбудителя при сохранении эндопротеза (Barberan J., 2006)
Фузидиевая кислота и бета-лактамы или рифампицин или фторхинолон	Клиническая эффективность при лечении инфекции протезированных суставов стафилококковой этиологии. Предотвращение роста резистентности возбудителей (Aboltins C.A. et al., 2007)

1.3.1.2. Место ванкомицина в терапии стафилококковой ППИ

В течение длительного времени препаратом выбора для лечения инфекций, вызываемых MRSA, MRSE, а также энтерококками, устойчивыми к β -лактамам и аминогликозидам, считался ванкомицин (Зайцев А.А. с соавт., 2003). Несмотря на то, что ванкомицин применяется в медицинской практике с начала 50-х годов, первое сообщение об устойчивости энтерококков к этому антибиотику появились только в конце 80-х годов (ванкомицин-резистентный энтерококк – VRE). Наиболее широкое распространение VRE получили в Северной Америке, что во многом объяснялось неоправданно широким профилактическим применением ванкомицина в отделениях интенсивной терапии. Для России устойчивость энтерококков к гликопептидам в настоящее время не является серьезной проблемой (обнаруживаются лишь единичные штаммы). Впервые устойчивость стафилококков к гликопептидам была описана у коагулазонегативных стафилококков. У штаммов *S. haemolyticus* устойчивость к гликопептидам распространена в большей мере, чем среди штаммов *S. epidermidis*. В 1996 г. в Японии были выделены штаммы *S. aureus* (Hiramatsu K., Hanaki H. et al., 1997; Hiramatsu K., Aritaka N. et al., 1997) со сниженной чувствительностью к ванкомицину, в последующие годы подобные штаммы были выделены и в других географических регионах. МИК ванкомицина в отношении таких штаммов колеблется в пределах 8,0–16,0 мкг/мл (*Staphylococcus aureus* с промежуточной чувствительностью к ванкомицину или гликопептидам – VISA или GISA). В 2002 г. с небольшим интервалом появились два сообщения из США о выделении в различных географических регионах (Пенсильвания и Мичиган) штаммов *S. aureus* с высоким уровнем устойчивости к ванкомицину (CDC-1, 2002; CDC-2, 2002).

В последнее время многие авторы отмечают снижение эффективности ванкомицина при антибактериальной терапии инфекций, вызванных метициллинорезистентными стафилококками, чувствительными к ванкомицину (Skoulas G. et al., 2006; Howden B.P. et al., 2010). Одним из признаков возможного

снижения эффективности данного гликопептида является повышение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) для ванкомицина у стафилококков. Moise-Broder с соавторами (2004) показали, что при лечении тяжелых инфекций, вызванных MRSA с МИК к ванкомицину 0,5 мкг/мл эффективность ванкомицина была 52,4%, при МИК = 1 мкг/мл данный показатель составил 29%, а при МИК=2 мкг/мл ванкомицин был эффективен только в 8% случаев (Moise-Broder P. et al., 2004). В настоящее время при лечении MRSA инфекций для преодоления сложившейся ситуации рекомендуют при назначении ванкомицина рассчитывать его дозу в зависимости от массы тела пациента: 15–20 мг/кг веса 2–3 раза в сутки, при ожирении с индексом массы тела $> 30 \text{ кг/м}^2$ – 30 мг/кг в сутки. При этом необходимо проводить мониторинг остаточной концентрации ванкомицина в крови для предупреждения нефротоксичности (Rybak M. et al., 2009; Liu C. et al., 2011).

1.3.1.3. Возможные альтернативы ванкомицину

В настоящее время в ряде исследований показан хороший эффект линезолида при лечении инфекции костей и суставов (Till M. et al., 2002; Rao N. et al., 2004; Rayner C.R. et al., 2004). Только у единичных клинических штаммов энтерококков установлена устойчивость к этому единственному представителю класса оксазолидинонов. При этом надо учитывать, что рекомендуемая продолжительность приема линезолида – 28 суток, является недостаточной для терапии перипротезной инфекции. Кроме того, некоторые исследователи не рекомендуют назначение данного препарата при лечении перипротезной инфекции из-за его бактериостатического действия на стафилококки (Trampuz A., Zimmerli W., 2008).

В 2010 году в РФ был зарегистрирован новый антибактериальный препарат – даптомицин, являющийся циклическим липопептидом природного происхождения, активным только в отношении грамположительных бактерий. Несмотря на то, что в настоящее время зарегистрированы показания к

применению даптомицина при осложненных инфекциях кожи и мягких тканей у взрослых, бактериемии, вызванной *S. aureus*, включая установленный или предполагаемый инфекционный эндокардит у взрослых, уже накоплен достаточно большой положительный опыт его применения в лечении костей и суставов. В настоящее время показано, что даптомицин в дозе 6 мг/кг веса пациента за счет своих фармакокинетических-фармакодинамических показателей эффективен в терапии инфекции диабетической стопы и остеомиелита, вызванных MRSA или ванкомицин-резистентными энтерококками (Rice D.A.K., Mendes-Vigo L.D., 2009; Traunmüller F. et al., 2010). В ряде экспериментальных работ показано его воздействие на микробные биопленки, образованные ванкомицин-резистентными штаммами *E. fecium* (Raad I. et al., 2005) и *S. aureus* (Raad I. et al., 2007) при катетер-ассоциированных инфекциях.

Еще одним новым антибактериальным препаратом, обладающим активностью в отношении метициллинорезистентных штаммов стафилококков и резистентных к ванкомицину штаммов энтерококков, является тигециклин. Данный препарат является первым в группе глицилциклинов и характеризуется эффективностью в отношении широкого спектра возбудителей, включая метициллинорезистентные кокки. Данный препарат в настоящее время зарегистрирован для лечения осложненных инфекций кожи и мягких тканей и осложненных абдоминальных инфекций. На данный момент времени отсутствуют публикации об эффективности тигециклина при лечении остеомиелита или перипротезной инфекции. В эксперименте по лечению остеомиелита у кроликов комбинированная терапия тигециклином в сочетании с пероральным приемом рифампицина в течение 28 суток привела к 100% эрадикации возбудителя (Yin et al., 2005).

На наш взгляд перспективным препаратом для лечения инфекций костной ткани, в том числе и перипротезной инфекции является один из «старых» антибиотиков – фосфомицин. Фосфомицин – гидрофильный термостабильный антибиотик широкого спектра действия, с небольшой молекулярной массой, незначительным связыванием с белками крови и хорошим проникновением в

ткани организма. Несмотря на то, что фосфомицин известен с 1969 года, препарат сохранил высокую антимикробную активность против проблемных патогенов, включая метициллинорезистентные штаммы *Staphylococci* (Falagas M.E. et al., 2009) и грамотрицательные бактерии, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра (Falagas M.E. et al., 2008). Ранее, в работах по изучению пенетрации фосфомицина в костную ткань у больных после эндопротезирования тазобедренного сустава и у пациентов с хроническим остеомиелитом установлено, что препарат хорошо проникает в губчатую кость, кортикальный слой и создает высокие концентрации в подкожно-жировой клетчатке (Sirot J., с соавт, 1983). В последние годы фосфомицину уделяется все большее внимание специалистами, занимающимися лечением имплантат-ассоциированной инфекции в ортопедии, в связи с его широким спектром действия, сохраняющейся активностью в отношении ведущих возбудителей инфекции костей и суставов, а также способностью воздействовать на микробные биопленки (Michalopoulos A.S. et al., 2011). Кроме того, показано действие фосфомицина на расположенные в макрофагах бактерии, в частности *S. aureus*, что способствует предупреждению хронизации и рецидивов инфекции. Препарат характеризуется также широким диапазоном терапевтических дозировок, что позволяет использовать его для лечения различных форм инфекций костей и суставов, в том числе вызванных метициллинорезистентными штаммами стафилококков.

1.3.2. Возможности локальной антимикробной терапии при лечении ППИ

Безусловно, основным компонентом лечения перипротезной инфекции, особенно в случае развития остеомиелита, является хирургическая санация очага с удалением инфицированных компонентов имплантата, некротизированных и лишенных кровоснабжения фрагментов кости, которые в данном случае представляют собой инородное тело и служат местом формирования микробных биопленок. Однако даже после тщательной санации в области оперативного вмешательства остаются микроорганизмы, преимущественно, в виде планктонных

форм и фрагментов, механически поврежденных биопленок, на борьбу с которыми и направлено действие системной антибактериальной терапии – второго компонента лечения ППИ. При этом надо помнить о том, что минимальные концентрации антибиотиков для эрадикации биопленок зачастую превышают минимальные ингибирующие концентрации (МИК) для планктонных форм бактерий в тысячу и более раз (Olson M. et al., 2002; Zilberman M. et al., 2008; Winkler H., 2009; Wu Wen-Shiann et al., 2013). В связи с этим, антибиотики, к которым возбудитель продемонстрировал чувствительность *in vitro* при рутинном бактериологическом исследовании, при системном введении будут активно подавлять планктонные формы бактерий в крови, но их концентрация в очаге инфекции может быть неэффективна. Существенное превышение рекомендуемых доз препаратов неминуемо приведет к развитию токсического действия.

Альтернативой системному введению больших доз антибиотиков является комбинация системной и местной антибактериальной терапии. Предполагают, что антибиотик, высвобождающийся непосредственно в очаге инфекции в концентрации, превышающей МИК для конкретного микроорганизма, напрямую уничтожает планктонные формы бактерий и дополнительно повреждает микробные биопленки, тем самым облегчая работу для антибиотиков, применяемых системно. Кроме того, высокая локальная концентрация позволяет препаратам проникать в некротизированные ткани и участки с плохим кровоснабжением путем диффузии (Silverman L.D., 2007; Zilberman M. et al., 2008).

Возможность создавать высокие концентрации антибактериальных препаратов в костной ткани с помощью различных импрегнированных антибиотиками остеозамещающих материалов существует давно. Среди этих материалов можно выделить нерезорбируемые – цементы на основе полиметилметакрилата (ПММА), и биодеградируемые материалы: костные трансплантаты, деминерализованный костный матрикс, материалы на основе

биокерамики, природные и синтетические полимеры, комбинированные транспортные системы для антибиотиков.

В последние два десятилетия локальная доставка антибиотиков в инфицированные раны стала важнейшим компонентом лечения инфекций опорно-двигательного аппарата в целом и перипротезной инфекции в частности. При незначительном уровне системной токсичности этот метод позволяет достичь в очаге инфекции концентрации антибиотика в несколько раз больше, чем МИК бактерии и чем позволяет системное введение. Высвобождение антибиотика и его конечная локальная концентрация зависит от времени, площади антибиотик-содержащего материала, природы и содержания антибиотика в материале, наличия биологических жидкостей и скорости омывания, характера самого материала (нерезорбируемый или биодеградируемый) (Forsberg J.A. et al., 2011). Далее мы рассмотрим различные виды материалов, применяемых в настоящее время в клинической практике или в экспериментальных исследованиях для лечения ортопедической инфекции.

1.3.2.1. Антимикробные спейсеры для локальной АБТ

До настоящего времени «золотым стандартом» в лечении инфекции протезированных суставов является применение импрегнированных антибиотиком цементных спейсеров на основе полиметилметакрилата (ПММА) (Мурылев В.Ю. с соавт., 2013; Ахтямов И.Ф. с соавт., 2014, Кильметов Т.А. с соавт., 2014; Langlais F., 2003; Gehrke T. et al., 2013; Corona P.S. et al., 2014; Uskoković V., 2015). На практике используются как готовые антибиотик-содержащие цементы, так и цементы, требующие смешивания компонентов непосредственно во время операции (Линник С.А. с соавт., 2009; Кильметов Т.А. с соавт., 2014; Куропаткин Г.В. и Ахтямов И.В., 2014). Анализ хирургического лечения более 3 тысяч случаев перипротезной инфекции (1525 в области коленного сустава и 1925 – тазобедренного) не выявил существенных различий в функциональных результатах и частоте развития инфекционных осложнений при

использовании готовых костных цементов или цементов, смешиваемых с антибиотиками вручную (Gehrke T. et al., 2013). Самостоятельное смешивание компонентов обычно обходится дешевле, чем готовые антибиотик-содержащие цементы (Laine J.C. et al., 2011).

Готовые цементы обычно содержат небольшое количество антибиотика и подходят, в большей степени, для профилактики перипротезной инфекции (Zilberman M. et al., 2008). Однако дополнительное добавление АМП к готовому антибиотик-содержащему цементу повышает элюцию препарата из спейсера (Zilberman M. et al., 2008; Ensing G.T. et al., 2008). Антибиотики, которые можно добавлять в цемент для создания эффективной концентрации в очаге инфекции должны быть термостабильны, чтобы сохранить активность в условиях нагревания цемента до 70–120°C (DiPisa J.A. et al., 1976) в процессе полимеризации, и водорастворимы для выделения антибиотика в окружающие цемент ткани. Кроме того, добавляемые антибиотики должны действовать бактерицидно в отношении ведущих возбудителей инфекции костей и суставов и быть активными в отношении внутриклеточно расположенных микроорганизмов.

К настоящему моменту накоплены данные о возможности применения для локальной этиотропной антимикробной терапии широкого перечня других термостабильных антибиотиков в составе костного цемента: цефазолин, цефуроксим, цефтазидим, цефотаксим, цефтаролин, ципрофлоксацин, клиндамицин, эритромицин, колистин, пиперациллина/тазобактам, азтреонам, тазобактам, линезолид, меропенем, даптомицин, амфотерицин, вориконазол (Gehrke T. et al., 2013). Н.А. Ефименко с соавторами (2009) рекомендуют выбор антибиотика для костного цемента основывать на результатах бактериологического исследования. Однако, в случаях, когда не удается получить аспират или бактериологическое исследование дает отрицательный результат, локальная, также как и системная антимикробная терапия должна быть эмпирической, то есть активной в отношении большинства ведущих возбудителей ортопедической инфекции. Выбор препаратов должен быть основан на данных мониторинга ведущей микрофлоры и ее антибактериальной резистентности в

конкретном ЛПУ. К настоящему времени, антибиотики, которые до настоящего времени во всем мире считаются препаратами выбора (аминогликозиды и ванкомицин) нельзя считать идеальным выбором. Ванкомицин характеризуется узким спектром действия, включающим только грамположительные возбудители, тобрамицин малоактивен в отношении грамположительных возбудителей, а обладающий широким спектром активности гентамицин в современных условиях возрастающей резистентности практически утратил свое значение в лечении имплантат-ассоциированных инфекций, обусловленных метициллинорезистентными стафилококками и грамотрицательными возбудителями (Сухорукова М.В. с соавт., 2014). По данным Thomes с соавторами в 20% случаев при развитии ППИ был выделен гентамицин-резистентный стафилококк, что свидетельствует о том, что использование гентамицина в цементе является неэффективным при лечении и последующем ревизионном эндопротезировании, в таких ситуациях требуются другие антибиотики (Thomes V.L. et al., 2002).

Основные свойства импрегнированного антибиотиком цемента, интересующие хирурга – это прочность изготовленного спейсера и высвобождение антибиотика. Существует международный стандарт, в соответствие с которым костный цемент, используемый для постоянной фиксации, должен иметь предел прочности на сжатие не менее 70 МПа (Международная Организация по стандартизации – ISO 5833-2) (Amin T.J. et al., 2012). Общеизвестно, что при увеличении количества антибиотика снижается прочность цемента (Bouzakis K.-D. et al., 2008). До настоящего времени нет четких рекомендаций относительно дозы того или иного антибиотика в составе костного цемента и не существует единого мнения среди хирургов, какая техника смешивания компонентов костного цемента является единственно правильной. Известно, что добавление более 4,5 г антибиотика к 40 г цемента приводит к значительному снижению прочности спейсера и повышает риск его разрушения. В большинстве случаев при лечении ППИ именно высвобождение антибиотика является основной задачей антибиотикосодержащего спейсера, а его опорная

функция является второстепенной. В случае, когда необходима цементная фиксация эндопротеза, не рекомендуют применять более 1 г антибиотика на 40 г цемента, чтобы не нарушить его структурные и прочностные свойства (Gehrke T. et al., 2013).

К основным факторам, влияющим на высвобождение антибиотика из спейсера, относятся вязкость и пористость костного цемента, форма и площадь поверхности спейсера, вид антибиотика, его количество и техника смешивания компонентов (Meyer J. et al., 2011). Ранее было показано, что высвобождение антибиотика происходит с поверхности цемента, из пор и трещин (Penner M.J. et al., 1999). Костный цемент на основе ПММА в определенной степени заполняется циркулирующими физиологическими жидкостями, которые вымывают антибиотик, но в связи с гидрофобностью цемента таким образом может быть выделено только около 10% антибиотика (DiCicco M.H. et al., 2003).

1.3.2.2. Безопасность локального применения антибиотиков в составе костного цемента

Клинические данные о негативном местном влиянии антибиотикосодержащих цементов отсутствуют, несмотря на то, что в последнее десятилетие ванкомицин, гентамицин и тобрамицин широко применяют для локальной антибактериальной терапии при лечении инфекции костей и суставов. Еще в 1996 Edin с соавторами в работе по изучению влияния на остеобласты ванкомицина в концентрациях от 0 до 10 000 мкг/мл в сравнении с цефазолином показали, что ванкомицин в концентрации менее 1000 мкг/мл не влияет или влияет незначительно на размножение остеобластов, а в концентрации 10 000 мкг/мл вызывает гибель клеток. Цефазолин проявлял большую токсичность: в концентрации 100 мкг/мл не влиял на размножение остеобластов, 200 мкг/мл снижали размножение, а 10 000 мкг/мл тоже вызывали гибель клеток (Edin M.M. et al., 1995). Тестирование концентраций гентамицина от 0 до 1000 мкг/мл на

культуре остеобластов, выделенных из губчатой кости, показало (Isefuku S.L. et al., 2003), что активность щелочной фосфатазы, которая является маркером жизнеспособности клеток, существенно снижалась ($p < 0,05$) при концентрациях антибиотика выше 100 мкг/мл. Разрушение ДНК наблюдалось при концентрации более 700 мкг/мл. В исследовании действия тобрамицина было показано, что его концентрация менее 200 мкг/мл не влияет на размножение остеобластов, торможение которого начиналось под действием концентрации 400 мкг/мл, а содержание 10 000 мкг/мл тобрамицина в инкубационной среде приводило к гибели клеток (Miclau T.H. et al., 1995).

Другие авторы оценивали влияние различных концентраций антибиотиков на остеогенные клетки. Они протестировали большой перечень препаратов из разных групп: цефалоспорины (цефазолин, цефотаксим, цефепим), карбапенемы (имипенем, меропенем), фторхинолоны (ципрофлоксацин, левофлоксацин), аминогликозиды (амикацин, гентамицин, тобрамицин), а также азитромицин, ванкомицин, даптомицин, доксициклин, колистин, миноциклин, пенициллин, рифампицин, триметоприм (Rathbone C.R. et al., 2011). Изучали влияние концентраций от 0 до 5 000 мкг/мл на количество остеобластов и активность щелочной фосфатазы. Наибольшие повреждения вызывали рифампицин, миноциклин, доксициклин, пенициллин, ципрофлоксацин, колистин и гентамицин: они значительно снижали количество остеобластов в культуре и активность щелочной фосфатазы уже при концентрации препарата 200 мкг/мл. Авторы установили, что наименьшей токсичностью обладали ванкомицин, тобрамицин и амикацин. По-видимому, имеющиеся данные необходимо учитывать при использовании комбинаций ванкомицина и гентамицина.

Помимо местной токсичности важным моментом является отсутствие системной токсичности при применении антибиотиков в составе ПММА-цементов. Исследование фармакокинетики ванкомицина у 10 пациентов, после первичного цементного эндопротезирования тазобедренного сустава с использованием 2 г ванкомицина в 40 г цемента показало, что концентрация антибиотика в сыворотке крови была менее 3 мкг/мл, что значительно меньше порога

токсичности (Chohfi M.N. et al., 1998). В другом исследовании после эндопротезирования с применением тобрамицин-содержащего цемента содержание тобрамицина в дренажном отделяемом составило в среднем 103 мкг/мл через 1 ч после операции и 15,1 мкг/мл через 48 ч. Средняя концентрация тобрамицина в сыворотке крови достигала своего максимума через 3 ч (0,94 мкг/мл) и снижалась до 0,2 мкг/мл через 48 ч; в моче максимум концентрации отмечали через 12 ч (57,8 мкг/мл), через 24 ч показатель снижался до 12,6 мкг/мл (Sterling G.J. et al., 2003). Таким образом, местное применение антибиотиков в составе костного цемента на основе ПММА является достаточно безопасным. Надо отметить, что фармакокинетические исследования аналогичного профиля у пациентов с ППИ затруднены в связи с тем, что пациентам в послеоперационном периоде, помимо локального применения антибиотиков или их комбинаций, назначают системную антибактериальную терапию, препараты для коррекции белковой недостаточности, железосодержащие препараты, что в итоге приводит к сложным лекарственным взаимодействиям.

1.3.2.3. Проблемы локального применения антибиотиков в составе костного цемента

В настоящее время неоспоримым является факт того, что многолетнее широкое применение гентамицина в составе костного цемента для профилактики ППИ приводит к росту штаммов, резистентных к данному антибиотику. В эксперименте *in vitro* имплантация крысам гентамицин-содержащих образцов ПММА-цемента подкожно в область, контаминированную гентамицин-чувствительным штаммом КНС, привела к тому, что, несмотря на меньшую частоту ИОХВ в сравнении с контролем (41 и 73%), частота инфекции, обусловленной гентамицин-резистентными штаммами, была существенно больше (78 и 19%, $p < 0,01$) в группе гентамицина (Thomes V.L. et al., 2002). Авторы рекомендуют избегать использования гентамицина в цементе при ревизионном

эндопротезировании, если этот же антибиотик использовался при первичном хирургическом вмешательстве. По-видимому, эта рекомендация справедлива и при лечении ППИ. Это утверждение поддерживают и другие авторы, которые выявили рост резистентных к гентамицину штаммов на поверхностях большинства удаленных компонентов эндопротезов при ревизионном эндопротезировании по поводу асептической нестабильности (Норе P.G. et al., 1989; Tunney M.M. et al., 1998). Из 91 пациента с глубокими ИОХВ, вызванными коагулазонегативными стафилококками, у 27 определялись микроорганизмы, резистентные к антибиотику, первично использовавшемуся в цементе (Норе P.G. et al., 1989). Применение гентамицина в цементе при первичном эндопротезировании ассоциировано с выявлением гентамицин-резистентных КНС при последующем инфекционном осложнении: гентамицин-резистентная инфекция развивается у 88% пациентов с использовавшимся гентамицином в составе ПММА-цемента при первичном эндопротезировании в сравнении с 16% пациентов с применением обычного цемента.

Необходимо помнить о том, что высвобождение малого количества антибактериального препарата не позволяет достичь его эффективных концентраций в зоне оперативного вмешательства, не препятствует формированию микробных биопленок на самом цементном спейсере (Neut D. et al., 2001; Tunney M.M. et al., 2007) и способствует хронизации инфекционного процесса и селекции резистентных штаммов возбудителей. Опубликованы данные о том, что бактериальная колонизация костного цемента коагулазонегативными стафилококками в экспериментах *in vitro* была в 15 раз выше, чем на поверхности нержавеющей стали и алюминия, и в 4 раза выше, чем на поверхности высокомолекулярного полиэтилена (Oga M.N. et al., 1988). В другом *in vitro* исследовании было показано, что адгезия штаммов коагулазонегативных стафилококков была в 10 раз выше к поверхности ПММА-цемента в сравнении с нержавеющей сталью и полиэтиленом (Gristina A.G. et al., 1989). Следовательно, если высвобождение антибиотика будет недостаточно, то при наличии бактериемии существенно возрастает риск адгезии на спейсере возбудителей и

затем формирования микробной биопленки, что может привести в итоге к рецидиву инфекции или развитию реинфекции. Более того, тезис о том, что содержащий малые дозы антибиотиков ПММА-цемент препятствует адгезии, является дискутабельным. В исследовании ингибиции бактериальной адгезии путем применения 1,2 г порошка тобрамицина, добавленного к 40 г цемента Palacos, не было обнаружено преимуществ в сравнении с адгезией на контрольных поверхностях, что делает нецелесообразным применение данного типа цемента для профилактики ППИ (Ефименко Н.А. с соавт., 2009).

Максимальное количество антибиотика высвобождается из спейсера в течение первых 24–72 часов после операции (Mastri V.A. et al., 1997), что можно объяснить эрозией поверхностных слоев цемента под действием окружающей жидкости и механических воздействий (Uskoković V., 2015). Дальнейшая элюция антибиотика в течение недель зависит от свойств используемого костного цемента. Группа исследователей показала, что существует статистически значимое увеличение высвобождения ванкомицина, когда доза тобрамицина в комбинации была увеличена с 2,4 г до 3,6 г (Bertazzoni M.E. et al., 2004). По-видимому, комбинация антибиотиков в спейсере может влиять на высвобождение каждого агента в отдельности. При растворении одного антибиотика увеличивается пористость и изменяется поверхность спейсера, что увеличивает элюирование другого антимикробного препарата.

Для профилактики ППИ при первичном эндопротезировании тазобедренного и коленного суставов цементы на основе ПММА, содержащие низкие дозы антибиотиков, в европейских странах применяют в течение многих лет (Hansen E.N. et al., 2014). Данные Норвежского регистра по эндопротезированию тазобедренного сустава с использованием цемента показали, что наименьшее число ревизионных операций, в том числе, связанных с ППИ, было выполнено в группе, где при первичной операции для профилактики применялись и системные антибиотики, и импрегнированный антибиотиками цемент (Espehaug V. et al., 1997). Однако в США Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов до настоящего времени

не одобрило применение цемента с антибиотиком при первичном эндопротезировании (Hansen E.N. et al., 2014).

Несмотря на широкое использование во всем мире, цементы на основе ПММА имеют следующие недостатки: материал не является биodeградируемым, а значит, на его поверхности может формироваться биопленка; при удалении цементного спейсера неизбежно происходит значительное повреждение костной ткани; только небольшая часть импрегнированного антибиотика может высвободиться в ткани (около 10%) по данным Zilberman с соавторами (2008); в связи с тем, что элюция антибиотика происходит путем диффузии через поры и микротрещинки в цементе, а не за счет его биodeградации, параметры высвобождения препарата могут сильно варьировать (Uskoković V., 2015) и во время латентной фазы высвобождения антибиотика его концентрация зачастую неэффективна в отношении возбудителей. Кроме того, при смешивании цемента и антибиотика вручную перед операцией изменяются гарантированные производителем характеристики материала, и результат может быть непредсказуем.

1.3.2.4. Носители антибиотиков на основе натуральной кости

Биodeградируемые материалы лишены многих недостатков костного цемента. Для лечения перипротезной инфекции, особенно после удаления инфицированного эндопротеза тазобедренного сустава, возможно использование костных трансплантатов, импрегнированных антибиотиками (Witsø E. et al., 2004; Winkler H. et al., 2009). По сравнению с ПММА, костные трансплантаты могут вмещать в себя значительно большее количество препарата. При использовании высокоочищенной губчатой кости концентрации препаратов остаются высокими в течение нескольких недель (Winkler H. et al., 2000). Michalak с соавторами (2006) для введения антибиотиков в губчатую кость предложили использовать ионофорез. Преимуществом костных трансплантатов является отсутствие необходимости удаления остеозамещающего материала и улучшение состояния

кости в стенке дефекта за счет постепенного замещения трансплантата костной тканью (по сравнению с цементом на основе ПММА, при удалении которого неизбежно происходит грубое повреждение кости). На возможность выполнения одностадийного лечения ППИ с использованием импрегнированных антибиотиком костных трансплантатов указывает Н. Winkler (2008, 2009), а М.А. Buttaro с соавторами (2005) показали, что при использовании измельченной головки бедренной кости, импрегнированной 1 г ванкомицина, его локальная концентрация была в 35 раз выше, чем при использовании ПММА-цемента. Для усиления антибактериального эффекта дополнительно применяли ПММА с аминогликозидами. При этом не наблюдалось нефротоксичности, характерной для ванкомицина и аминогликозидов.

Другим материалом на основе аллогенной костной ткани является деминерализованный костный матрикс (ДКМ), состоящий из костного коллагена и небольшого количества водорастворимых белков. ДКМ полностью замещается костной тканью при помещении в область костного повреждения и при эктопической имплантации, стимулируя остеогенез благодаря наличию особого белка-индуктора (Herford A.S. et al., 2007; Schmidmaier G. et al., 2007). В сравнении с костными трансплантатами этот материал отличает простота приготовления и устойчивость к инфекции. С. Ketonis с соавторами (2010) предложили использовать модифицированный ДКМ для профилактики ППИ. Для этого с помощью иммуногистохимических методов молекулы ванкомицина присоединили к белкам на поверхности деминерализованной кости, превратив костные фрагменты в особый материал с биоактивной поверхностью, препятствующей адгезии микроорганизмов и формированию биопленок.

Недостатками материалов на основе натуральной кости является сложность заготовки трансплантатов, возможность передачи вирусной инфекции, юридические и этические ограничения, а в случае аутокости – ограниченные ресурсы донорских зон, опасность переломов и хронических болевых синдромов в месте забора донорского материала (Мушкин М.А. с соавт., 2012).

1.3.2.5. Носители антибиотиков на основе биокерамики

Указанных недостатков лишены различные виды биокерамики – большая группа материалов на основе неорганических соединений, обладающих остеокондуктивностью, то есть способностью формировать «каркас» для образования костной ткани в области дефекта. Для депонирования лекарственных препаратов наиболее часто используют биокерамику на основе сульфатов и фосфатов кальция. Сульфат кальция применяют для замещения костных дефектов в течение многих лет благодаря его пластичности и полной резорбции с последующим ремоделированием и формированием новой костной ткани (McPherson E.J et al., 2013). Сегодня это наиболее доступный биodeградирующий материал для клинической практики. При лечении экспериментального остеомиелита у кроликов наилучший результат (эрадикация инфекции в 11 из 13 случаев) был получен в группе, где проводили хирургическую санацию и местную антибактериальную терапию с помощью сульфата кальция, нагруженного тобрамицином (10 масс.%). В группе, где имплантировали сульфат кальция без антибиотика и вводили тобрамицин внутримышечно, положительный результат был достигнут в 5 случаях из 14; санация и сульфат кальция без антибиотика – в 3 из 13; только санация – в 5 из 12 случаев. Концентрация антибиотика в экссудате в группе сульфата кальция с тобрамицином на первые сутки составила $11868 \pm 439,8$ мкг/мл, на 7-е – $2,5 \pm 3,4$ мкг/мл. Концентрация в плазме крови была максимальна через 3 часа после операции ($5,87 \pm 4,13$ мкг/мл) и не определялась через сутки после операции (Nelson C.L. et al., 2002).

В РФ наиболее широко применяется материал Osteoset на основе сульфата кальция (Линник С.А. с соавт., 2009; Мушкин М.А. с соавт., 2012). W.T. Jia с соавторами (2010) изучали импрегнированный тейкопланином Osteoset *in vitro* и *in vivo* на кроликах. Авторы показали, что в 1-е сутки после операции выделилось примерно 50% всего импрегнированного антибиотика, затем его скорость элюции снизилась, и к 9 суткам выделилось примерно 83%. Несмотря на то, что элюция тейкопланина сохранялась до 29-го дня, концентрация выделившегося

антибиотика превышала его МИК для MRSA на протяжении только 3 недель. При этом выделяемый тейкопланин не терял своих антимикробных свойств в процессе смешивания с гранулами, а локальная концентрация препарата была ниже токсичной, которая вызывала замедление регенерации костной ткани. В группах, где использовался тейкопланин внутривенно и в виде локальной терапии, у всех кроликов в течение месяца после операции не было рецидива инфекционного процесса, обусловленного MRSA (Jia Wei-Tao et al., 2010).

Одним из серьезных недостатков сульфата кальция является его цитотоксичность (Robinson D. et al., 1999; Lee G.H. et al., 2002;), которая приводит к развитию локального воспаления (Campana V. et al., 2014), что может быть причиной обильного отделяемого из послеоперационной раны (Uskoković V., 2015). К другим недостаткам данного материала исследователи относят низкую способность стимуляции регенерации костной ткани, низкую прочность, слишком быстрое рассасывание (El-Husseiny M. et al., 2011).

Структурными аналогами минерального компонента костного вещества являются биологически активные кальцийфосфатные материалы на основе гидроксиапатита и трикальцийфосфата (ТКФ) (Баринов С.М., 2010), которые также достаточно часто используются для локальной антибактериальной терапии в ортопедии и травматологии. ТКФ полностью резорбируется в течение 6 недель и, как сульфат кальция, слишком быстро высвобождает антибиотики (Uskoković V., 2015). Ряд факторов, таких как, кровоснабжение, качество кости, размер дефекта, наличие фиброзных тканей, могут оказывать влияние на резорбцию остеозамещающего материала и остеогенез. Установлено, что материалы Cerasorb и Cerasorb M, состоящие из ТКФ с различным размером пор, высвобождают ванкомицин и гентамицин в концентрации, превышающей МИК для стафилококков, только в течение 4 и 5 дней, соответственно (Maier G.S. et al., 2013). Однако добавление к трикальцийфосфату коллагена и сгустков крови вместе с тромбином или аспирином костного мозга позволило замедлить высвобождение гентамицина, элюция которого продолжалась 2 недели, при этом

13 дней концентрация гентамицина оставалась выше 2 мкг/мл (Silverman L.D. et al., 2007).

По мнению ряда авторов при замещении костных дефектов ТКФ или сульфатом кальция на границе быстро резорбируемого материала и медленно регенерирующей кости формируется слой фиброзной ткани, что может нарушать восстановление дефекта и служить причиной переломов (Greish Y.E. et al., 2003; Kurksu M. et al., 2012). Гидроксиапатит дольше сохраняется в организме после имплантации (Campana V. et al., 2014) и обладает большей прочностью, чем трикальцийфосфат. Таким образом, комбинация гидроксиапатита с ТКФ или сульфатом кальция в различных пропорциях позволяет добиться оптимальных сроков биодеградации и замещения материала полноценной костной тканью. Кальцийфосфатные материалы и цементы на основе фосфатов кальция выгодно отличаются от сульфата кальция низкой цитотоксичностью и остеоиндуктивными свойствами, то есть способностью не только служить каркасом для восстановления кости, но и активировать факторы роста костной ткани (Uskoković V., 2015).

Существенное влияние на высвобождение антибиотика из биокерамических материалов оказывают размер пор. Концентрация ванкомицина, высвобождаемого из гранул микроразмерного фосфата кальция была ниже МИК для MRSA на 10-й день наблюдений, в то время как нанокристаллический фосфат кальция поддерживал концентрацию ванкомицина выше МИК в течение 12 недель (Jiang J.L. et al., 2012). При изучении элюции гентамицина из двухфазного кальцийфосфатного цемента (гидроксиапатит, покрытый α -трикальцийфосфатом), вместо чистого водного раствора при смешивании материала добавляли водный раствор гентамицина в концентрации 0, 4, 8 и 16 масс.%. Вслед за быстрой фазой элюции антибиотика (24 часа) следовала фаза замедленного высвобождения, на 30 день наблюдений средняя концентрация гентамицина составила 7, 12 и 76 мкг/мл, соответственно для каждой тестируемой концентрации (Su W.Y. et al., 2013).

В настоящее время выделяют еще одну группу биокерамических остеозамещающих материалов – биоактивное стекло. Материал отличается наличием собственной антибактериальной активности за счет выделения ионов кальция, натрия, фосфатов и силикатов, которые повышают pH и осмотическое давление в окружающей среде, препятствуя адгезии микроорганизмов (Andersson O.H. et al., 1993), и демонстрируя активность в отношении микробных биопленок клинических штаммов MRSA и *P. aeruginosa* (Drago L. et al., 2014). Кроме того, данный материал обладает остеокондуктивными свойствами, стимулирует ангиогенез (Drago L. et al., 2013) и способствует заживлению ран (Lin C. et al., 2012). В последние годы появляются работы, показывающие, что различные варианты биостекла имеют большой потенциал в лечении хронической ортопедической инфекции. В настоящее время установлена активность биоактивного стекла BAG-S53P4 в отношении клинических штаммов: MRSA, MRSE, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, а также его эффективность при клиническом применении у пациентов с хроническим остеомиелитом (Drago L. et al., 2013). Есть работы, показывающие, что биоактивное стекло также может быть использовано и как носитель антибиотиков непосредственно в очаге инфекции (Liu X. et al., 2010). До настоящего времени остеозамещающие материалы на основе биоактивного стекла не зарегистрированы для клинического применения в РФ.

Исследовали два вида инъекционного цемента, импрегнированного ванкомицином: один – на основе боратного стекла и хитозана и другой – на основе сульфата кальция, в сравнении с системным введением ванкомицина. Элюция антибиотика из композитного биоматериала в концентрации, превышающей МИК для MRSA (1 мкг/мл) из первого материала продолжалась более 30 дней, из второго – более 21 дня. При исследовании *in vivo* на кроликах не было выявлено признаков токсичности, связанных с действием ванкомицина и/или с повышением концентрации бора. Эрадикация MRSA-инфекции через 2 месяца после имплантации цемента достигнута у 14 из 16 животных; в группе сульфата кальция – у 13 из 16; в группе системного применения ванкомицина – только у 7 из 16 (Ding H. et al., 2014).

1.3.2.6. Носители антибиотиков на основе полимеров

Еще одной группой материалов, которые могут применяться как носители антимикробных препаратов, являются природные полимеры, наиболее изученным представителем, которых является коллаген. Коллаген используют в качестве альтернативы ПММА для доставки антибиотиков в очаг инфекции с 1980-х годов (Uskoković V., 2015). V. Mendel с соавторами (2005) считают, что материалы на основе коллагена могут быть более эффективны, чем ПММА, в качестве носителя антибиотика при лечении инфекции костей и суставов. Отечественные исследователи (Живцов О.П. и Митрофанов В.Н., 2012) с успехом использовали в лечении полостных форм остеомиелита у пациентов коллагеновые губки, импрегнированные гентамицином (Коллатамп ИГ). Кроме того, опубликованы положительные результаты при применении указанного материала для профилактики и лечения перипротезной инфекции (Бут-Гусаим А.Б. с соавт., 2013; Logroscino G. et al., 2011). Тем не менее, в настоящее время коллаген в виде губки или флиса чаще применяется в лечении ран или при инфекции мягких тканей, так как его основным недостатком является его высокая иммуногенность (El-Husseiny M. et al., 2011), которая провоцирует выраженное локальное воспаление в месте имплантации (Uskoković V., 2015), что может способствовать обильной экссудации и нарушать заживление послеоперационной раны. Другим недостатком данного биополимера является его неравномерная биодеградация, что является причиной неконтролируемого высвобождения импрегнированного антибиотика (Sørensen T.S. et al., 1990). По этим причинам коллаген в чистом виде не рекомендуют применять для локальной антибиотикотерапии в ортопедии и травматологии. Однако на его основе создают композитные материалы со сниженной иммуногенностью и замедленным высвобождением антимикробных препаратов (Uskoković V., 2015).

Помимо коллагена, существуют публикации о возможности применения для локальной антибиотикотерапии инфекции костей и суставов таких биополимеров, как пектин, амилоза, альгинат, гиалуроновая кислота, различные биогели,

хитозан. Последний обладает собственной антибактериальной активностью (бактериостатическим действием) за счет взаимодействия зарядов поверхности материала и клеток организма, изменения проницаемости клеточных мембран и ингибирования синтеза РНК (Данильченко С.Н. и соавт., 2009; Noel S.P. et al., 2008; El-Husseiny M. et al., 2011). В эксперименте *in vitro* установлено высвобождение антибиотиков более 3 суток в концентрациях, превышающих МИК для стафилококков (для даптомицина) и *P. aeruginosa* (для амикацина) (Noel S.P. et al., 2008). Хитозан считают перспективным материалом для биохимической модификации благодаря наличию в его структуре множества функциональных групп, которые могут быть замещены (Patel M.P. et al., 2010), в связи с чем представляется возможным создание различных композитных материалов с определенными свойствами, такими как замедленная биodeградация и контролируемое высвобождение лекарственных препаратов.

Синтетические полимеры отличаются от природных более продолжительным периодом деградации в организме (M. El-Husseiny et al., 2011), что позволяет достигать замедленного и контролируемого высвобождения импрегнированных антибиотиков. Наиболее изучены в качестве носителя антибиотиков для локальной терапии инфекции костей производные полигликолевой кислоты и поли-L-молочной кислоты (poly-(glycolic) acid, PGA; poly-(L-lactic) acid, PLLA; poly-(lactide-glycolide) acid, PLGA) (Campana V. et al., 2014; Uskoković V., 2015) и поли-(ε-капролактон) (Le Ray A.M. et al., 2005; Anand A. et al., 2009).

В последние годы активно изучается возможность создания наноразмерных синтетических полимеров для доставки антибиотиков через клеточную мембрану непосредственно к внутриклеточно расположенным возбудителям (El-Husseiny M. et al., 2011). В экспериментах на культуре остеобластов мыши установлено, что добавление в культуральную среду наночастиц PLGA, импрегнированных нафциллином, уничтожает или снижает количество внутриклеточно расположенных бактерий (Zecheru T. et al., 2010). В другом исследовании показано, что при покрытии наноразмерного фосфата кальция PLGA,

импрегнированным клиндамицином, антибиотик выделяется в достаточно высокой концентрации в течение 30 дней (Uskoković V. et al., 2013). Еще одно важное свойство синтетических полимеров на основе PLGA – возможность путем изменения соотношения полилактида и полигликолида влиять на профиль растворимости вещества, следовательно, и на профиль высвобождения антибиотика, в организме. Полилактид растворяется в период от 3 месяцев до года. Чем больше в структуре PLGA более растворимого полигликолида, тем быстрее полимер будет биодеградировать (Uskoković V., 2015).

У производных полилактида/полигликолида имеются свои недостатки. В ряде работ отмечается, что в процессе биодеградации этих полимеров происходит образование кислых продуктов, которые понижают pH среды и препятствуют регенерации костной ткани (Gunatillake P.A. et al., 2003; Böstman O.M. et al., 2005). Кроме того, снижение pH окружающей среды может неблагоприятно повлиять на эффективность выделяемых антимикробных препаратов. К примеру, МИК клиндамицина в отношении *S. aureus* увеличивается в 16 раз при снижении pH среды с 7,4 до 5,5 (Lemaire S. et al., 2011). Neut D. с соавторами (2009) изучали лишенный этого недостатка полимер поли-(триметилен-карбонат) с гентамицином. *In vitro* за 14 дней наблюдения высвобождение гентамицина из полимерных дисков (60%) и ингибирование роста биопленок *S. aureus* (80%) были схожи с результатами, полученными при использовании готовых цементных шариков из ПММА, импрегнированного гентамицином. Кроме того, к недостаткам всех синтетических полимеров можно отнести отсутствие стандартизированного метода стерилизации, при котором бы не происходило частичное повреждение структуры полимера (Uskoković V., 2015).

1.3.2.7. Перспективные направления в локальной терапии ППИ

Многие авторы сходятся во мнении, что будущее локальной антибактериальной терапии перипротезной инфекции и остеомиелита за композитными материалами, которые представляют собой комбинацию

нескольких остеозамещающих материалов. В таких комбинациях можно регулировать прочность, скорость биодеградации, влиять на регенерацию костной ткани, контролировать элюцию лекарственных препаратов (Ma T. et al., 2011, Shi P. et al., 2010). Получены (Живцов О.П. и Митрофанов В.Н., 2012) хорошие результаты при использовании в лечении остеомиелита материала отечественного производства Коллапан, состоящего из гидроксиапатита и коллагена, импрегнированного АМП (существуют варианты с добавлением линкомицина, гентамицина, метронидазола, цефотакима, рифампицина, диоксидина, изониазида и коллоидного серебра). Однако необходимы дальнейшие исследования параметров высвобождения антибиотиков из данного материала с целью сопоставления концентрации высвобождаемого препарата с его МИК в отношении конкретных возбудителей ППИ (Ардашев И.П. и соавт., 2012).

Наиболее современным и, по-видимому, перспективным направлением является добавление рекомбинантных костных морфогенетических белков, стволовых клеток и факторов роста в состав комбинированных остеозамещающих материалов. Интересную модель гипотетического композитного материала предложили Х. Ма с соавторами (2011), которые описали тераностические наночастицы, имеющие в составе или на своей поверхности различные функциональные группы, обеспечивающие одновременно и лечение (наличие лекарственного средства), и репаративные процессы в костной ткани (остеокондуктивные материалы), и возможность диагностики (флуоресцентные метки и пр.) характера повреждения. Такой материал обладает способностью не просто продолжительно высвобождать импрегнированное лекарственное средство, а действовать многоступенчато в соответствии со стадией репаративного процесса.

Кроме непосредственно лечения ППИ, импрегнированные антибиотиками материалы могут быть использованы в качестве покрытия для имплантируемых конструкций с целью профилактики адгезии микроорганизмов, формирования биопленок и развития инфекции. Особенно актуальны такие покрытия при установке ревизионного эндопротеза в ходе лечения перипротезной инфекции. В

литературе имеются данные по применению с этой целью биокерамики и различных синтетических полимеров (Raschke M.J. et al., 2004; Zilberman M. et al., 2008; Ordikhani F. et al., 2014; Metsemakers W.J. et al., 2015).

Таким образом, вопросы рационального применения антибактериальных препаратов при лечении ППИ до настоящего времени не имеют окончательных ответов. Во многом это определяется низкой эффективностью системной антибактериальной терапии, как правило, из-за низкой пенетрации препаратов в костную ткань, антибиотикорезистентности возбудителей, как в планктонной форме, так и в составе микробных биопленок, роль которых в патогенезе имплантат-ассоциированных инфекций в ортопедии в настоящее время неоспорима. В результате того, что повсеместно возрастает число эндопротезирований крупных суставов, растет и связанная с проблемой перипротезной инфекции актуальность поиска методов повышения эффективности лечения этого серьезного осложнения, которое, в связи с высоким риском хронизации, инвалидизации, необходимостью повторных оперативных вмешательств и дорогостоящей медикаментозной терапии, приводит к существенным затратам системы здравоохранения. Все это требует изучения свойств возбудителей, в частности, *Staphylococcus* spp., изолированных из биоматериалов и с удаленных имплантатов, исследования профиля резистентности данных возбудителей, разработки эффективных схем антибактериальной терапии и методов контроля за потреблением антибактериальных препаратов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено в ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» Минздрава России. В основе работы лежит создание системы мер по оптимизации антибактериальной терапии ППИ после эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов путем изучения результатов различных вариантов лечения пациентов с данной патологией; 8-летнего мониторинга структуры и антибиотикорезистентности бактериальных возбудителей ППИ; экспериментального исследования микробных биопленок; и разработки новых способов лечения и профилактики ППИ. Кроме того, клинико-экономическую эффективность разработанной системы оценивали методами фармакоэкономического анализа потребления антимикробных препаратов и финансовых затрат ЛПУ.

2.1. Общая характеристика пациентов, включенных в исследование

Основу клинической части исследования составили 476 пациентов, проходившие лечение в отделении гнойной хирургии РНИИТО им. Р.Р. Вредена по поводу стафилококковой ППИ области тазобедренного и коленного суставов в период 2008-2015 гг. Большинство пациентов ранее 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%).

Ретроспективно проводили анализ влияния микробных ассоциаций, включающих представителей *Staphylococcus* spp., на эффективность двухэтапного метода лечения ППИ у 224 пациентов, проходивших лечение в отделении гнойной хирургии с 2008 по 2011 гг. Критерием включения пациентов было: выполнение санирующей операции с удалением эндопротеза и установкой цементного спейсера по поводу перипротезной инфекции области тазобедренного или коленного сустава, в этиологии которой принимали участие *S. aureus* и

S. epidermidis. Мужчин было 42,2%, средний возраст составил 55,5 (52,6–58,5) лет. В 60,2% случаев (n=133) развитие ППИ было диагностировано после первичного эндопротезирования, в 29,8% случаев (n=82) – после ревизионного. Все пациенты были разделены на 2 группы:

– монобактериальной ППИ (группа МБ-ППИ) – пациенты с перипротезной инфекцией, обусловленной только одним возбудителем – представителем *Staphylococcus* spp.;

– полибактериальной ППИ (группа ПБ-ППИ) – пациенты с перипротезной инфекцией, обусловленной двумя и более возбудителями, один из которых - представитель *Staphylococcus* spp.

В группу МБ-ППИ вошел 151 пациент, в группу ПБ-ППИ – 73 пациента. Сформированные группы существенно не различались по половозрастному составу, подробная характеристика представлена в разделе 3.4. главы 3.

Проспективно изучали влияние характера возбудителей, хирургической тактики ведения пациентов, стартовой антимикробной терапии, и применения разработанных способов локальной антибактериальной терапии на клинико-экономическую эффективность лечения 252 пациентов с ППИ стафилококковой этиологии, пролеченных в отделении гнойной хирургии в 2011–2015 гг. с применением системной АБТ в соответствии с разработанными рекомендациями

В исследование включены случаи, отвечающие критериям включения:

- ППИ после ЭП ТБС или КС;
- выделение штамма *S. aureus* и *S. epidermidis* из области хирургического вмешательства (аспирата, тканевого биоптата, с удаленных компонентов ЭП);
- ревизионная операция в объеме ревизия, санация, удаление эндопротеза, установка цементного спейсера, дренирование или ревизия, санация, дренирование с сохранением эндопротеза.

Критерии исключения:

- нестафилококковая этиология ГИОХВ;
- наличие очага инфекции другой локализации, требующего дополнительных медицинских назначений (пневмония, сепсис и др.).

Схема распределения пациентов на группы и подгруппы для проведения анализа клинико-экономической эффективности представлена на рисунке 2.1:

➤ группа I – пациенты (n=75), которым выполнена saniрующая операция с удалением компонентов эндопротеза и установкой антимикробного спейсера по поводу ППИ, развившейся после выполненного в РНИИТО им. Р.Р. Вредена эндопротезирования ТБС или КС в период 2011–2013 гг.:

- ✓ зависимость от характера возбудителя: подгруппа MRSA (n=26) – ППИ вызванная MR-штаммами; стафилококков, подгруппа MSSA (n=49) – ППИ вызванная MS-штаммами стафилококков;
- ✓ зависимость от стартовой антибактериальной терапии: подгруппа АБТ-1 (n= 25) – бета-лактамы с ципрофлоксацином, подгруппа АБТ-2 (n=24) – ванкомицин с ципрофлоксацином.

➤ группа II – пациенты (n=25), которым выполнена saniрующая операция с сохранением эндопротеза по поводу ППИ, развившейся в течение 1 месяца после выполненного в РНИИТО им. Р.Р. Вредена эндопротезирования тазобедренного или коленного сустава в период 2011–2013 гг.

➤ группа АМК – пациенты (n=41), которым в 2013 г. выполнена saniрующая операция с удалением компонентов ЭП, установкой антимикробного спейсера и дополнительным интраоперационным применением разработанной антимикробной композиции для локальной терапии;

➤ группа КЦ-ванко – пациенты (n=88), которым в 2014–2015 гг. по поводу ППИ области тазобедренного сустава выполнена saniрующая операция с удалением компонентов эндопротеза и установкой антимикробного спейсера из костного цемента с добавлением ванкомицина для усиления антимикробного действия и системной АБТ в соответствии с разработанными рекомендациями;

➤ группа КЦ-фосфо – пациенты (n=23), которым в 2014–2015 гг. по поводу ППИ области тазобедренного сустава выполнена saniрующая операция с удалением компонентов эндопротеза и установкой антимикробного спейсера из костного цемента с добавлением фосфомицина для усиления антимикробного действия и системной АБТ в соответствии с разработанными рекомендациями;

Группа 2 отличалась от группы 1 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 соответствие 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 группу 2 период формирования указанных групп (2011–2013 гг.) в исследование были включены все случаи saniрующих операций с сохранением ЭП, выполненных по поводу стафилококковой ППИ I типа, развившейся после эндопротезирования тазобедренного или коленного сустава, выполненного в условиях клиники РНИИТО им. Р.Р. Вредена. Остальные сопоставляемые группы и подгруппы существенно не различались по половозрастному составу, подробная характеристика представлена в главе 7.

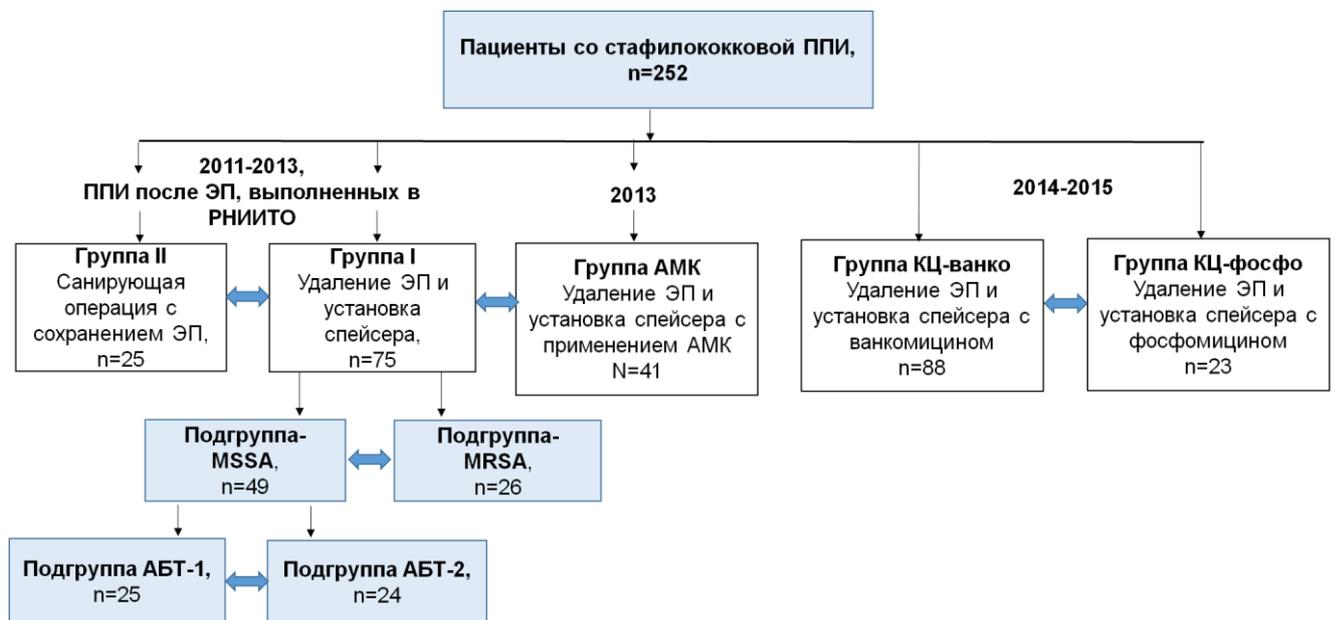


Рисунок 2.1. Схема распределения пациентов в зависимости от группирующего фактора

↔ – группы сравнения

2.2. Общая характеристика включенных в исследование бактериальных штаммов

Исследование динамики спектра ведущих возбудителей ППИ и их антибиотикорезистентности основано на ретроспективном анализе результатов бактериологического исследования материала от 1706 пациентов, проходивших лечение по поводу перипротезной инфекции в отделении гнойной хирургии РНИИТО им. Р.Р. Вредена с января 2007 по декабрь 2014 гг. Материалом для бактериологического исследования служили тканевые биоптаты, аспираты, раневое отделяемое, удаленные ортопедические конструкции (компоненты эндопротезов, винты, цементные спейсеры и др.). В итоге, в исследование включили данные о 2268 штаммов *Staphylococcus* spp., состав которых представлен в таблице 2.1.

Таблица 2.1

Видовой спектр представителей рода *Staphylococcus*, включенных в исследование

Вид	Количество, n	Доля, %
<i>Staphylococcus aureus</i>	1486	65,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	585	25,8
<i>Staphylococcus warneri</i>	32	1,4
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	26	1,1
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	38	1,7
<i>Staphylococcus hominis</i>	21	0,9
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	16	0,7
другие <i>Staphylococcus</i> spp.	66	2,9
Итого:	2268	100

Кроме того, в связи со значительной долей микробных ассоциаций, в составе, которых выделялись стафилококки (27,7%), дополнительно изучена

антимикробная резистентность штаммов *E. faecalis* (n=36), *E. faecium* (n=15), *P. aeruginosa* (n=40), *A. baumannii* (n=21), *Enterobacter cloacae* (n=22), *E. coli* (n=14), *K. pneumoniae* (n=13). Подробная структура и характеристика исследуемых биоматериалов и клинических штаммов представлена в главе 3.

Анализ способности к биопленкообразованию (БПО) проводили на основе экспериментального исследования 394 клинических штаммов стафилококков (241 – *S. aureus*, и 153 – *S. epidermidis*), выделенных из тканевых биоптатов, аспиратов и удаленных конструкций 321 пациента с перипротезной инфекцией, проходивших лечение в клинике РНИИТО им Р.Р. Вредена в 2012 гг. В данной выборке было представлено 167 штаммов MSSA, 74 – MRSA (30,7% от всех *S. aureus*), 34 – MSSE, 119 – MRSE (77,8% от всех *S. epidermidis*). При этом 90 изолятов стафилококков (22,8%) были выделены с удаленных ортопедических конструкций (компонентов эндопротезов, винтов, цементных спейсеров), остальные 304 (87,2%) – из биологическим материалов.

Эксперименты *in vitro* по изучению эффективности концентраций антибиотиков аналогичным концентрациям, создаваемым в сыворотке крови при системном введении стандартных доз препаратов (далее – сывороточные концентрации), проводили на выборке 25 клинических изолятов MRSA с различной способностью к БПО. Изоляты были выделены из тканевых биоптатов (n=10), ортопедических конструкций (n=10) и аспиратов (n=5). Слабыми биопленкообразователями были 10 штаммов, сильными – 15. Подробная характеристика представленных штаммов дана в разделе 4.2 главы 4.

В экспериментах по изучению синергидного взаимодействия субклинических концентраций антибактериальных препаратов эксперименты *in vitro* проводили со штаммами метициллино-устойчивых и чувствительных изолятов *S. aureus* с охарактеризованной устойчивостью к гентамицину: референсные штаммы MSSA ATCC 25923 и ATCC 6538, клинические изоляты MRSA 8074 и 8785, выделенные от пациентов с документированной ППИ.

2.3. Общая характеристика экспериментальных животных, условия их содержания и проведения экспериментов *in vivo*

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 «ФГУ РНИИ ТО им. Р.Р. Вредена» в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Council of the European Communities Directive 86/609/EES) (Страсбург, 1986), Приказу МЗ РФ №708Н от 23 августа 2010 г. Все процедуры с животными были рассмотрены и утверждены Локальным этическим комитетом на предмет соответствия этическим принципам.

Условия содержания животных соответствовали стандартам, указанным в руководстве The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (ILAR publication, 1996, National Academy Press, 1996). Животные были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья. Животные были адаптированы/акклиматизированы в лаборатории в течении как минимум 7 дней до начала введения.

Животные находились в идентичных условиях кормления и содержания. Крыс содержали в клетках по 7–8 особей, кроликов – по 3 особи в условиях искусственного освещения (по 12 часов темного и светлого времени), принудительной 12-кратной в час вентиляции, при температуре 18–26°C и относительной влажности 30–70%.

Подстил. Использовали коммерческий подстил для грызунов LIGNOCEL (JRS, Germany). Не было контаминации подстила, способной повлиять на результаты исследования.

Корм. Крысы получали стандартный брикетированный корм «Корм для содержания лабораторных грызунов ПК-120» (Россия, ГОСТ), давался *ad libitum* в кормовое углубление стальной решетчатой крышки клетки. Кормление кроликов производили три раза в день, в рацион кормления входили морковь, капуста, комбикорм с витаминными добавками, вода. Данные о составе и качестве корма

от производителя хранятся в документации лаборатории. Не было контаминации корма, способной повлиять на результаты исследования.

Вода. Профильтрованная водопроводная вода давалась *ad libitum* в стандартных стеклянных бутылках по 500 мл с конической пробкой из нержавеющей стали с отверстием в центре. Подготовка воды обеспечивала отсутствие контаминации, способной повлиять на результаты исследования. В лаборатории проводятся периодически анализы питьевой воды на микробиологическую контаминацию. Результаты анализа воды хранятся в документации лаборатории.

Распределение животных по группам. В экспериментальные группы были отобраны животные без признаков отклонений внешнего вида, так, чтобы индивидуальное значение массы не отклонялось от среднего значения в группе более чем на $\pm 10\%$. На каждое животное заводили отдельную историю болезни. Подробнее распределение животных по группам в зависимости от проводимого лечения и непосредственный ход экспериментов представлены в разделах 2.7 и 2.8 данной главы.

При подготовке к операции, за сутки, кормление прекращали, животные получали лишь воду. Оперативное вмешательство проводили под кетаминным наркозом: крысам – 5% раствор 0,5 мл, кроликам – 5% раствор до 4 мл. Эвтаназию животных производили путём передозировки раствора 20% тиопентала натрия: крысам – 250 мг внутривенно, кроликам – 4,0 г. Все манипуляции над животными проводили в соответствии с Хельсинкской декларацией о гуманном обращении с животными.

2.4. Материалы для фармакоэкономического анализа

В данной исследовательской работе проводили анализ потребления antimicrobных препаратов в условиях отделения гнойной хирургии №4 Российского НИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена. В ходе фармакоэпидемиологического анализа изучали следующие объекты: структуру

потребляемых антибактериальных препаратов и финансовые затраты на них, потребление антимикробных препаратов в указанных отделениях за восемь последовательных лет: 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013 и 2014 годы.

Перечень закупленных антимикробных препаратов за изученный период соответствовал формулярному перечню института, принятому формулярной комиссией института, пересматриваемому 1 раз в год на основании Федерального руководства по использованию лекарственных средств. Источниками финансирования на статью «Медикаменты» являлись: средства по оказанию высокотехнологичной медицинской помощи, средства фонда обязательного медицинского страхования; средства по системе добровольного медицинского страхования; средства, полученные за счет платных услуг.

Перечень антибиотиков, вошедших в исследование, состоит из 21 препарата различных групп и включает: ампициллин/сульбактам, амоксициллин/клавуланат, цефазолин, цефуроксим, цефтриасон, цефиксим, цефтазидим, цефоперазон, цефоперазон/сульбактам, цефипим, меропенем, имипенем, ципрофлоксацин, моксифлоксацин, ванкомицин, линезолид, амикацин, рифампицин, ко-тримоксазол, доксициклин, фосфомицин, метронидазол.

Данные по расходу антимикробных препаратов в отделении гнойной хирургии и финансовым затратам на них получены 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.

В ходе анализа клинико-экономической эффективности анализировали финансовые карты пациентов с ППИ (n=252), составивших проспективную группу, которая подробно описана в разделе 2.1 данной главы. В данной части исследования учитывали совокупные финансовые затраты ЛПУ по разделам: оперативное пособие и расходные материалы для операции; антибиотики; медикаменты, кроме АБ; затраты на пребывание ОРИТ; прочие медицинские услуги и предоставление койко-дня в палате.

2.5. Клинико-лабораторные методы исследования пациентов с ППИ

При поступлении пациента проводили общий осмотр пациента, сбор анамнеза для выявления сопутствующих заболеваний и возможных этиологических факторов возникшего инфекционного осложнения, подробно анализировали течение послеоперационного периода эндопротезирования, предшествующего развитию ППИ. В случае предшествующего ревизионного эндопротезирования принимали во внимание результаты микробиологического исследования забранных интраоперационно материалов, при их наличии.

Оценивали наличие ранее перенесенных операций области сустава (корректирующих остеотомий, различных вариантов остеосинтеза), время манифестации ППИ, период существования ППИ с момента диагностики до момента санирующей операции. При осмотре оценивали наличие локальных признаков воспаления в области раны: гиперемии, отека, свищевого хода, и системных – лихорадки.

Данные пациентов регистрировали в виде электронных таблиц MS Office Excel, 2007 (Microsoft, США). Методы статистического анализа подробно представлены в разделе 2.10 настоящей главы. Перечень признаков, заносимых в базу данных, включал: возраст, пол, локализацию ППИ (ТБС и КС), наличие сопутствующей патологии: системных заболеваний (РА, СКВ), артериальной гипертензии, риск сердечно-сосудистых осложнений, патологии дыхательной системы, инфекции МВП, хронической вирусной инфекции, диабета, патологии ЖКТ; рост и вес для расчета ИМТ, наличие операций в анамнезе, время манифестации ППИ, время существования инфекции (между манифестацией инфекции и операцией), этиологию, рецидив в течение 1 года после операции.

2.5.1. Гематологические и биохимические методы исследований

Всем больным при поступлении и при выписке выполняли исследования крови для определения активности воспалительного процесса, опираясь на

общемировой опыт диагностики данной категории больных. Лабораторно оценивали количество лейкоцитов, уровень С-реактивного белка (СРБ), СОЭ, а также уровень гемоглобина, протеинемии. Взятие крови выполняли из кубитальной вены вакуумными системами для забора крови в соответствии с типом исследования: в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) – для проведения гематологических исследований, с активатором свертывания – для получения сыворотки крови и исследования биохимических показателей и натрия цитратом – для определения СОЭ. Лабораторные исследования крови выполняли в центральной клиничко-диагностической лаборатории (ЦКДЛ) РНИИТО им. Р.Р. Вредена. Референтные значения исследуемых показателей представлены в таблице 2.2.

Количество лейкоцитов и уровень гемоглобина определяли в составе клинического анализа крови, который выполняли на автоматическом гематологическом анализаторе Beckman&Coulter LH 500 (Beckman Coulter Inc., США) с использованием реактивов того же производителя. Исследование СРБ, уровня общего белка выполняли на биохимическом анализаторе Roche Cobas INTEGRA-800, (Roche Inc., США) тестовыми системами того же производителя. Определение СОЭ – измерение реакции агглютинации красных кровяных клеток при стимулировании их белковыми реагентами в острой фазе проводили по методу Вестергрена.

Таблица 2.2

Референтные значения исследуемых показателей

Показатели	Референтные значения	
	Мужчины	Женщины
Количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	4,0–9,0	
Концентрация гемоглобина, г/л	130,0–160,0	120,0–140,0
СОЭ, мм/час	17-50 лет 2–10 >50 лет 2–20	17–50 лет 2–20 >50 лет 2–30
Общий белок, г/л	66,0–87,0	
СРБ, мг/л	0,0–5,0	

2.5.2. Лучевые методы исследования

Рентгенологическое исследование области ППИ (тазобедренного или коленного суставов) выполняли всем пациентам до операции и однократно в послеоперационном периоде. До настоящего времени нет рентгенологических признаков, являющихся специфичными для ППИ. Такие признаки как периостальная реакция и остеолиз (рис. 2.2) не дают возможность однозначно диагностировать наличие ППИ, однако позволяют предположить ее существование при их раннем появлении (в течение 1 года) после эндопротезирования. В таких случаях диагностическую значимость повышает динамический рентгенологический контроль и выявление прогрессирования зон остеолиза.

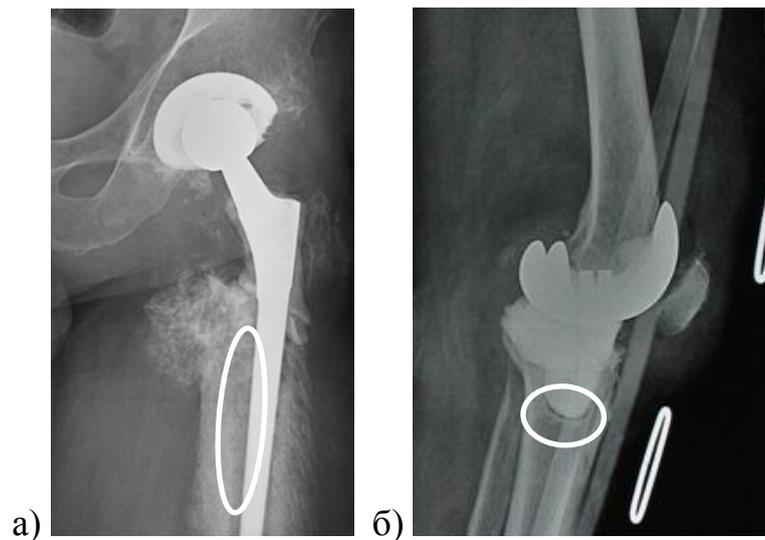


Рисунок 2.2. Периостальная реакция в области установки бедренного компонента эндопротеза ТБС (а) и большеберцового компонента эндопротеза КС (б)

При свищевых формах ППИ во всех случаях выполняли контрастную рентгенофистулографию, для уточнения расположения свищевых ходов, локализации гнойных затеков и их связи с очагами деструкции и областью установки эндопротеза (рис. 2.3). Данный метод позволяет определить глубину поражения тканей инфекционным процессом и провести дифференциальную диагностику поверхностной (рис. 2.3 а) и глубокой форм ППИ (рис. 2.3 б, в), что

существенно влияет на тактику хирургического лечения. Противопоказаниями к выполнению фистулографии были тяжелое общее состояние больного и непереносимость рентгенконтрастных веществ.

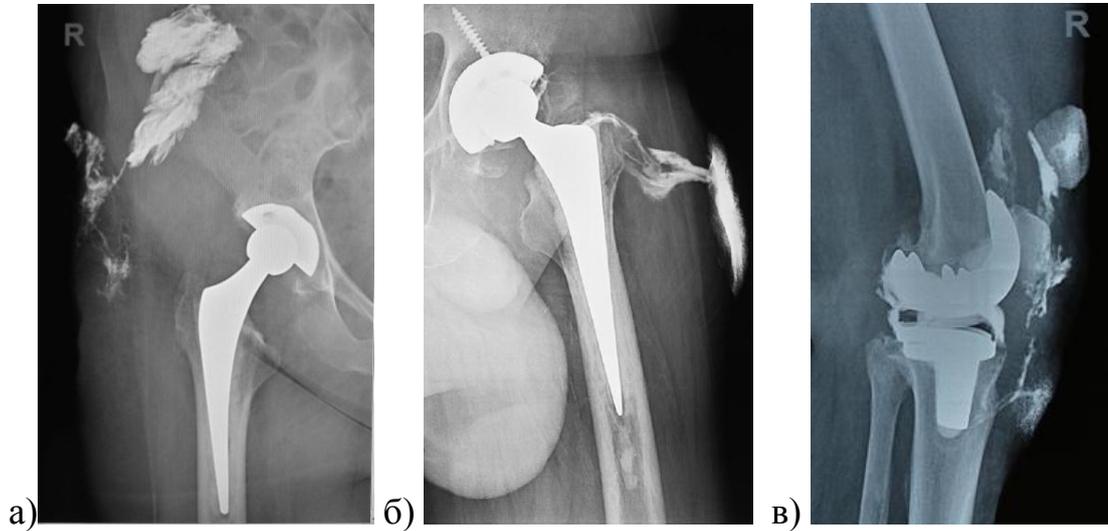


Рисунок 2.3. Рентгенограммы фистулографии до ревизионной операции:

а – свищевой ход не проникает в область установки эндопротеза – выполняли санную операцию с сохранением эндопротеза;

б – свищевой ход проникает в область установки эндопротеза ТБС – выполняли санную операцию с удалением эндопротеза и установкой спейсера;

в – свищевой ход проникает в область установки эндопротеза КС – выполняли санную операцию с удалением эндопротеза и установкой спейсера

Исследование методом ультразвуковой эхографии (УЗИ) при подозрении на ППИ носило вспомогательный характер, в случаях, когда вероятность инфекции очень высока, а выполнение аспирации бедра не позволяло получить пунктат. В таких ситуациях УЗИ помогало определить наличие зоны скопления жидкости (инфицированной гематомы, абсцесса) и при повторной пункции получить необходимые образцы патологического содержимого. УЗИ в указанных случаях выполняли с помощью ультразвуковой диагностической медицинской системы Logiq E9 (GE Medical Systems, США).

2.5.3. Бактериологические методы исследования

Бактериологические исследования выполняли в лаборатории микробиологии РНИИТО им. Р.Р. Вредена. Материалами для бактериологического исследования были:

- дооперационные аспираты из области пораженного сустава, пункцию выполняли при отсутствии функционирующего свищевого хода, аспират помещали в одноразовые флаконы для культивирования гемокультур с обогащенной питательной средой и отдавали в бактериологическую лабораторию;

- тканевые биоптаты (в количестве 3–5) – интаоперационно по ходу хирургического доступа из разных локализаций (фасция, капсула, грануляционная ткань и т.д.) во флаконы, содержащие жидкую высокопитательную среду в объеме 3–5 мл, поддерживающую рост прихотливых и анаэробных микроорганизмов, забранный материал передавали в бактериологическую лабораторию по окончании операции;

- удаленные ортопедические конструкции помещали в стерильные герметичные пластиковые контейнеры с добавлением 400 мл стерильного физиологического раствора и отдавали в бактериологическую лабораторию по окончании операции.

Для исследования биоматериалов использовали метод прямого посева на питательные среды: колумбийский агар, шоколадный агар, агар Шедлера с антибиотиками (ванкомицин, канамицин). Срок инкубации до 14 суток при 37°C. Исследование компонентов удаленных конструкций включало обязательную деструкцию микробной биопленки, с помощью ультразвуковой обработки в течение 5 минут при мощности 300 Вт и номинальной частоте 40 кГц, с целью получения взвеси sessильных микробных клеток для дальнейшего культурального бактериологического исследования (Trampuz A. et al., 2007).

Микробиологическое исследование биоматериала от пациентов проводилось в соответствии с Методическими указаниями по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (МУК

4.2.1890-04. 2004). Определение чувствительности исследуемых штаммов стафилококков к антибактериальным препаратам проводилось диско-диффузионным методом с использованием агара Мюллера-Хинтон (BioMedical, Россия) и дисков, содержащих антибиотики (Oxoid, Великобритания): бензилпенициллин, ванкомицин, гентамицин, клиндамицин, ко-тримоксазол, линезолид, моксифлоксацин, оксациллин, рифампицин, тетрациклин, фосфомицин, цефокситин, ципрофлоксацин и эритромицин. Кроме того, в отношении 193-х штаммов MRSA и 96 – MRSE, выделяемых с 2012 г., методом эпилотрии были определены минимальные ингибирующие концентрации (МИК) ванкомицина с помощью E-тестов (Oxoid, Великобритания). Чувствительность выделенных штаммов грамотрицательных микроорганизмов определяли к ампициллину, амоксициллину/клавуланату, пиперациллину, пиперациллину/тазобактаму, цефотаксиму, цефтриаксону, цефтазидиму, цефоперазону, цефоперазону/сульбактаму, цефепиму, имипенему, меропенему, гентамицину, амикацину, тобрамицину, нетилмицину, ципрофлоксацину, диоксидину, доксициклину, тетрациклину, ко-тримоксазолу, колистину. Интерпретация результатов выполнялась: в 2007–2010 гг. – в соответствии с МУК 4.2.1890-04; с января 2011 г. – в соответствии с критериями EUCAST, версия 1.3. и 1.5.

Эпидемиологический анализ данных, полученных в результате исследования, выполняли с применением программы «Система микробиологического мониторинга «Микроб-2»» (© 1999–2013 МедПроект-3); регистрацию данных проводили с помощью программного пакета MS Office Excel, 2007 (Microsoft, США), статистический анализ полученных данных проводили с использованием Z-критерия стандартного нормального распределения для оценки разности между долями (Сергиенко В.И. с соавт., 2000).

2.6. Тактика лечения пациентов с ППИ

В 25 случаях пациентам из проспективной группы была выполнена санация гнойного очага с сохранением эндопротеза и заменой полиэтиленового вкладыша, остальным пациентам, включенным в исследование (224 человека – из ретроспективной группы и 144 – из проспективной), была выполнена санация очага ППИ с удалением эндопротеза и установкой антимикробного спейсера.

В ходе проведения санации с сохранением эндопротеза основными этапами операции были:

- визуализация зоны поражения при введении раствора бриллиантового зеленого с перекисью водорода и иссечение старого послеоперационного рубца;
- иссечение патологически измененных тканей в области эндопротеза в пределах здоровых и взятие образцов для микробиологического и гистологического исследования ($n=3-5$), в случае прокрашивания тканей под широкой фасцией бедра, выполняли полноценную ревизию сустава на всю глубину раны, в ходе которой после вывиха головки эндопротеза определяли стабильность бедренного компонента и прочность фиксации вертлужного компонента;
- непосредственная хирургическая обработка тканей по всей глубине, иссечение краев операционной раны с обработкой раны растворами антисептиков;
- ушивание раны узловыми швами, дренирование раны путем активной аспирации выполняли в соответствии с глубиной, локализацией и протяженностью инфекционного процесса, а также с учетом возможных путей распространения патологического содержимого, свободные концы дренажей выводили через отдельные проколы мягких тканей и фиксировали на коже отдельными узловыми швами;
- на ушитую рану накладывали асептическую повязку с раствором антисептика.

В послеоперационном периоде все пациенты, получали парентеральную антибактериальную терапию 10–14 дней, с последующим переходом на

пероральные препараты на 4–6 недель. Выбор препарата проводили на основе результата дооперационного бактериологического исследования аспирата, при невозможности получить аспират или отсутствии роста микроорганизмов назначали эмпирическую антибактериальную терапию в соответствии с разработанными научно обоснованными рекомендациями, которые подробно описаны в главе 6. Эффективность лечения определяли отсутствием обращения пациента в течение 1 года после выполнения 2 этапа в клинику РНИИТО им. Р.Р. Вредена с признаками развития ППИ.

Вариант санации с удалением эндопротеза и установкой антимикробного спейсера включал:

- визуализацию зоны поражения при введении раствора бриллиантового зеленого с перекисью водорода и иссечение старого послеоперационного рубца;

- иссечение патологически измененных тканей в области эндопротеза в пределах здоровых и взятие образцов для микробиологического и гистологического исследования ($n=3-5$), в результате чего осуществляли доступ непосредственно к имплантату, выполняли удаление всех компонентов эндопротеза тазобедренного или коленного суставов, иногда с достаточными техническими трудностями, приводящими к появлению дефектов костной ткани, при этом удаленные конструкции в специальных стерильных пластиковых контейнерах, также как и образцы тканей отправляли на микробиологическое исследование;

- непосредственно хирургическую обработку (дебридмент) тканей по всей глубине раны с помощью ультразвукового аппарата;

- установку антимикробного спейсера для заполнения «мертвого» пространства: блоковидные спейсеры (рис. 2.4 а, в) готовили из гентамицин-содержащего костного цемента на основе ПММА с дополнительным добавлением антибиотика (ванкомицин или фосфомицин). Артикулирующие спейсеры (рис. 2.4 б) для тазобедренного сустава включали металлический бедренный компонент, в качестве которого заранее подбирали новую ножку цементной фиксации или, что чаще, использовали удаленный бедренный компонент, подвергнутый

стерилизации в ходе операции, вертлужный компонент, готовили интраоперационно из костного цемента, при этом оба компонента артикулирующего спейсера устанавливали на костный цемент с антибиотиком. Артикулирующие спейсеры для коленного сустава включали металлический бедренный компонент, в качестве которого подбирали заранее стерилизованную ножку цементной фиксации или, что чаще, использовали удаленный бедренный компонент, простерилизованный непосредственно в ходе операции; большеберцовый компонент готовили в операционной из костного цемента, при этом оба компонента артикулирующего спейсера устанавливали на костный цемент с антибиотиком.

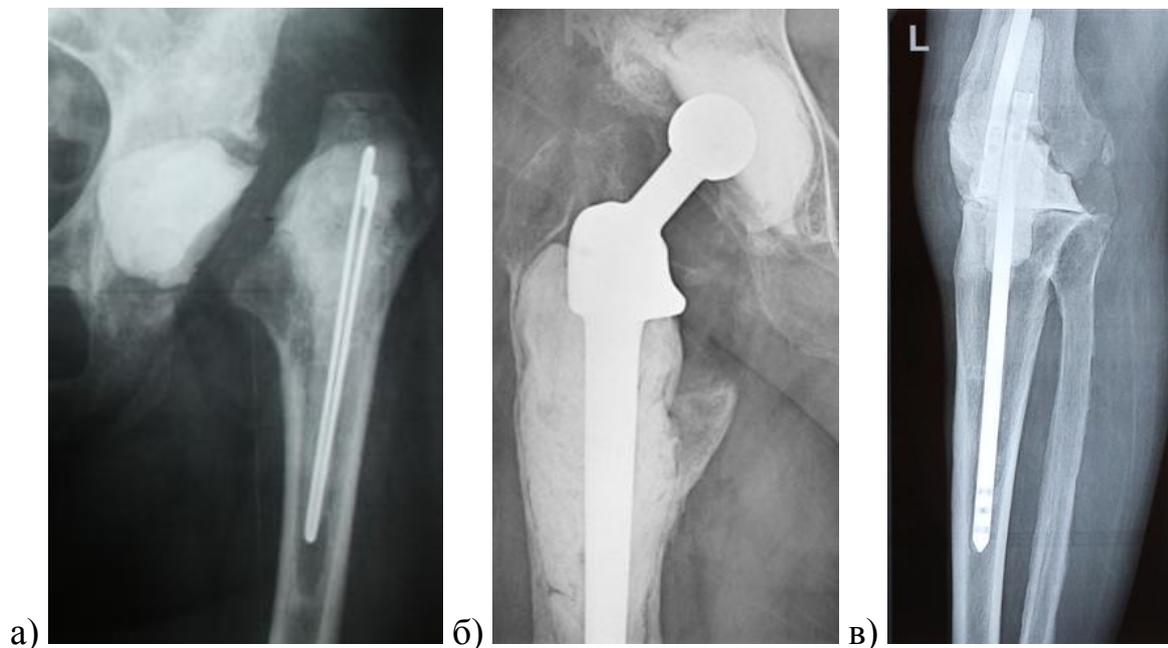


Рисунок 2.4. Рентгенограммы установленных в ходе санлирующей операции спейсеров:

- а – блоковидный спейсер левого тазобедренного сустава;
- б – артикулирующий спейсер правого тазобедренного сустава;
- в – блоковидный спейсер левого коленного сустава

– ушивание раны и ее дренирование путем активной аспирации, свободные концы дренажей выводили через отдельные проколы мягких тканей и фиксировали на коже отдельными узловыми швами.

– на ушитую рану накладывали асептическую повязку с раствором антисептика. В ряде случаев, при значительной нестабильности сустава, в послеоперационном периоде накладывали тазобедренную гипсовую иммобилизацию сроком до 3-х мес.

В послеоперационном периоде все пациенты, получали парентеральную антибактериальную терапию 10–14 дней, с последующим переходом на пероральные препараты на 4–6 недель. Выбор препарата проводили на основе результата дооперационного бактериологического исследования аспирата, при невозможности получить аспират или отсутствии роста микроорганизмов назначали эмпирическую антибактериальную терапию в соответствии с разработанными научно обоснованными рекомендациями, которые подробно описаны в главе 6. Пациентам, которым выполняли первый этап двухэтапного лечения ППИ (удаление эндопротеза и установку спейсера) рекомендовали выполнение второго этапа через 2–4 месяца. Эффективность лечения определяли как купирование инфекции, т.е. отсутствие рецидива инфекции на момент поступления в клинику РНИИТО им. Р.Р. Вредена для выполнения 2 этапа лечения (ревизионного эндопротезирования): отсутствие свищевого хода, лабораторных признаков инфекционно-воспалительного процесса (нормальные показатели крови – СОЭ, СРБ, количество лейкоцитов), отрицательные результаты бактериологического исследования аспирата. Кроме того, учитывали отсутствие обращения пациента в течение 1 года после выполнения 2 этапа в клинику с признаками развития ППИ.

2.7. Экспериментальные *in vitro* методы исследования

Исследования, представленные в данном разделе, выполняли в научном отделении профилактики и лечения раневой инфекции РНИИТО им. Р.Р. Вредена.

2.7.1. Методика *in vitro* определения степени биопленкообразования (БПО) у клинических штаммов *Staphylococcus* spp.

Пленкообразующие свойства штаммов изучали с использованием красителя генцианвиолета по методу Christensen с соавторами (1985), с минимальными изменениями в собственной модификации. Суточную бульонную культуру *Staphylococcus* spp. (18 ч, 37°C) при контроле денситометра Den-1B (BioSan, Латвия) стерильным бульоном приводили к стандартной мутности 0,5 McFarland; затем разбавляли в 100 раз и полученную микробную культуру (106 КОЕ/мл) по 150 мкл вносили в лунки стерильных 96-луночных микропланшет, соблюдая четырехкратные повторности. Каждую серию опытов проводили с использованием референтных штаммов *S. aureus* ATCC 6538 и *S. aureus* ATCC 25923, для оценки воспроизводимости исследований; негативным контролем служили лунки со стерильным питательным бульоном. Закрытые крышками планшеты инкубировали 48 ч при 37°C, во влажной камере. По истечении срока инкубации, при помощи электронного дозатора освобождали ячейки от микробного планктона; в освободившиеся ячейки вносили по 170 мкл 0,1% раствора генцианвиолета и оставляли на 40 мин для окрашивания. Затем планшеты последовательно трехкратно отмывали. Далее во все лунки вносили по 200 мкл этилового спирта и оставляли планшеты при комнатной температуре на 45 мин, по окончании экстракции измеряли оптическую плотность (ОП) при длине волны 540 нм (iEMS- фотометр, Thermo Labsystems). Средние значения по результатам 4-кратных измерений вносили в базу данных эксперимента. Для референтных штаммов *S. aureus* ATCC 6538 и *S. aureus* ATCC 25923 средние значения ОП и среднеквадратичное отклонение между сериями измерений степени БПО составили $0,596 \pm 0,127$ и $0,052 \pm 0,018$, соответственно. В соответствии с результатами измерения ОП экстракта оценивали степень биопленкообразования (БПО) и распределяли штаммы на две группы: с выраженной способностью к БПО при $ОП \geq 0,2$ и слабой способностью к БПО при $0,2 > ОП$.

Для учета результатов анализа, построения диаграмм использовали программные ресурсы пакета Microsoft Office Excel, 2007.

2.7.2. Методика исследования чувствительности к антибиотикам планктонных и сессильных форм клинических штаммов *S. aureus*

Моделирование биопленки осуществляли по Christensen с соавторами (1985) (см. п. 2.4.1.), антимикробное действие на биопленки – по Raja с соавторами (2011) (Raja A.F. et al., 2011), в собственной модификации. Оценивали эффективность АМП, у которых была выявлена различная степень активности в отношении MR-стафилококков (гл. III): ванкомицин, даптомицин, линезолид, рифампицин, фосфомицин, моксифлоксацин, ко-тримоксазол, гентамицин. В исследование включены концентрации препаратов, аналогичные концентрациям, создаваемым в сыворотке крови при парентеральном введении препарата (табл. 2.3).

Таблица 2.3

Концентрации антибиотиков, включенных в исследование

Антибиотик	Концентрация, мкг/мл
Линезолид	15
Фосфомицин	25
Моксифлоксацин	4,5
Ко-тримоксазол	4,5
Рифампицин	4
Гентамицин	16
Ванкомицин	20
Даптомицин	60

2.7.2.1. Оценка действия антибиотиков на зрелые микробные биопленки

Исследуемые штаммы *S. aureus* выращивали в триптонно-соевом бульоне (ТСБ) 18–24 ч при 37°C; суточную бульонную культуру разбавляли по стандарту мутности 0,5 McF необходимым количеством стерильного ТСБ и полученную микробную взвесь (10^8 КОЕ/мл) по 150 мкл вносили в лунки стерильных 96-луночных микропланшет, соблюдая четырехкратные повторности. Отрицательным контролем служили лунки со стерильным питательным бульоном. Закрытые крышками планшеты, помещенные во влажную камеру, инкубировали 24 ч при 35°C, после чего удаляли ростовую среду с микробным планктоном и дважды промывали засеянные лунки 300 мкл стерильного 0,1 М фосфатно-солевого буфера (Биолот, РФ). Затем в лунки отрицательного контроля и положительных (без антибиотика) контролей вносили по 150 мкл стерильного бульона. В опытные лунки вносили по 150 мкл соответствующего раствора антибиотика (табл. 2.3), соблюдая трехкратные повторности. Планшеты инкубировали в условиях влажной камеры 24 ч при 35°C, после чего содержимое лунок удаляли и для окрашивания вносили по 200 мкл 0,1% раствора кристаллического фиолетового на 40 мин. Затем планшеты трехкратно отмывали водой и далее проводили экстракцию красителя этиловым спиртом (200 мкл/на лунку) в течение 45 мин, с последующим измерением оптической плотности (ОП) полученных экстрактов при длине волны 540 нм (iEMS-фотометр, Thermo Labsystems). Средние значения по результатам 3-кратных измерений вносили в базу данных эксперимента.

2.7.2.2. Оценка действия антибиотиков на процесс формирования биопленки стафилококками

Исследование проводили с использованием стерильных 96-луночных микропланшет. В лунки отрицательного контроля вносили по 150 мкл стерильного ТСБ. Исследуемые штаммы *S. aureus* выращивали в ТСБ 18–24 ч при

37°C; суточную культуру разбавляли в соответствии со стандартом мутности 0,5 McF необходимым количеством стерильного ТСБ, до получения суспензии 10^8 КОЕ/мл. Полученную микробную взвесь по 75 мкл вносили в лунки, соблюдая 4-х кратные повторности. Для каждого штамма в лунку положительного контроля (без антибиотика) вносили по 75 мкл ТСБ, в остальные 3 опытные лунки – по 75 мкл соответствующего раствора антибиотика (табл. 2.3). Планшеты инкубировали 24 ч при 35°C, в условиях влажной камеры. По окончании инкубации ростовую среду удаляли и для окрашивания вносили в лунки по 200 мкл 0,1% раствора кристаллического фиолетового на 40 мин. Затем планшеты трехкратно отмывали водой и проводили экстракцию красителя этиловым спиртом (200 мкл/на лунку) в течение 45 мин, с последующим измерением оптической плотности (ОП) полученных экстрактов, при длине волны 540 нм (iEMS-фотометр, Thermo Labsystems). Средние значения по результатам 3-кратных измерений вносили в базу данных эксперимента.

2.7.3. Оценка синергидного взаимодействия комбинаций антибиотиков в отношении штаммов *S. aureus*

Для подтверждения синергидного взаимодействия субклинических концентраций антибактериальных препаратов в отношении штаммов *S. aureus*, были проведены *in vitro* эксперименты по определению антимикробного действия комбинаций гентамицина с диоксидином в различных концентрациях в отношении метициллино-устойчивых и чувствительных изолятов с охарактеризованной устойчивостью к гентамицину.

2.7.3.1. Метод «шахматной доски»

Синергизм изучали с помощью метода «шахматной доски» (Berenbaum М.С., 1978) в отношении 4-х штаммов стафилококков: референсные штаммы MSSA ATCC 25923 и ATCC 6538, клинические изоляты MRSA 8074 и 8785,

выделенные от пациентов с документированной инфекцией ППИ после эндопротезирования тазобедренного сустава, демонстрирующие резистентность к гентамицину. Все исследования проводили в дубликатах, параллельно на двух 96-луночных микропланшетах.

Для оценки взаимодействия антибиотиков использовали фракционный индекс ингибиции (FIX – the fractional inhibitory index), который вычисляли по формуле:

$$FIX = FIC (\text{антибиотик 1}) + FIC (\text{антибиотик 2}), \quad (2.1)$$

где FIC (fractional inhibitory concentrations) фракционная ингибирующая концентрация исследуемого антибиотика, которую рассчитывали как отношение величины МИК антибиотика в комбинации с МИК одного антибиотика.

Результаты вычислений FIX для определения вида взаимодействия препарата интерпретировали согласно шкале (Sugita T. et al., 2005):

< 0,5 синергизм

0,5–4 индифферентность

> 4 антагонизм

Для оценки синергизма в каждую ячейку 96-луночного планшета вносили по 50 микролитров (мкл) питательного бульона Мюллера-Хинтон (МХБ). Гентамицин титровали серийно двукратно вдоль оси ординат (Y), начиная с концентрации 2400 до 0 мкг/мл, второй антимикробный агент (диоксидин) титровали вдоль оси абсцисс (X), начиная с концентрации 2500 до 0 мкг/мл в соответствии с представленной схемой планшета (табл. 2.4). Инокулюм готовили для каждой культуры в стерильном изотоническом растворе, с плотностью микробной суспензии, соответствующей 0,5 McFarland. В каждую ячейку 96-луночной микропланшеты вносили 100 мкл инокулюма и помещали планшету для инкубации в термостат при 37°C на 18 ч. За МИК (в мкг/мл) принимали наименьшую концентрацию антимикробного средства, при которой не наблюдалось видимого роста микроорганизма.

В соответствии с полученными результатами, были рассчитаны коэффициенты FIX. Значения FIC, также рассчитанные на основе результатов

экспериментов, использовали для построения изоболограммы, характер которой должен был подтвердить или опровергнуть предположение о синергидном взаимодействии гентамицина и диоксицина.

Таблица 2.4

Пример схемы 96-луночного микропланшета для оценки эффекта комбинации двух антимикробных агентов методом «шахматной доски» в отношении культуры клинического штамма MRSA 8074

← Гентамицин мкг/мл			1	2	3	4	5	6	7	8		9	10	11	12
	A	2400	-	-	-	-	-	-	-	-	18,8	-	-	-	-
	B	1200	-	-	-	-	-	-	-	-	9,4	-	-	-	-
	C	600	-	-	-	-	-	-	-	-	4,8	-	-	-	-
	D	300	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+	+	+	+
	E	150	-	-	-	-	-	-	-	-	2,4	+	+-	-	-
	F	75,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	+	+	-	-
	G	37,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	+	+	+	-
	H	0	+	+	+	-	-	-	-	-	0	+	+	+	+
		0	39	78	156	312	625	1250	2500		0	0,61	1,22	2,44	
← Диоксидин (мкг/мл)															

Условные обозначения: «+» - рост тест-культуры в ячейке;
«-» - отсутствие видимого роста.

2.7.3.2. Метод кинетических кривых гибели/роста бактерий

Для подтверждения установленного методом «шахматной доски» усиления действия гентамицина в комбинации с диоксидином в отношении метициллинорезистентных стафилококков оценка синергизма указанных антимикробных средств была выполнена также методом кинетических кривых гибели/роста бактерий.

Сравнительная оценка действия различных концентраций индивидуальных препаратов и их комбинаций проводилась на основании кинетики гибели

стафилококков в результате действия препаратов. Для такой оценки использовали измерения чисел КОЕ/мл в установленные периоды времени и строили кинетические кривые гибели микроорганизмов. Наклон кинетической кривой является мерой скорости гибели микроорганизмов.

Синергизм определяли как снижение КОЕ в 100 или более раз, либо на 2 Lg через 24 ч в комбинации, при сравнении с индивидуальным наиболее активным антимикробным компонентом и как 100-кратное снижение КОЕ в сравнении с начальным инокулюмом.

Потенцирование (аддитивность), или индифферентность, определяли как менее чем 10-кратное изменение в числе КОЕ на 24 ч при действии комбинации по сравнению с КОЕ при действии наиболее активного индивидуального (антимикробного) компонента.

Антагонизм при действии комбинации определяли как возрастание числа КОЕ в 100 и более раз за 24 ч, в сравнении с наиболее активным индивидуальным компонентом. Для исследования активности антимикробных агентов гентамицина и диоксилина, каждого индивидуально, а также их комбинации в суб-МИК концентрациях, конструировали кривые гибели/роста культуры стафилококка в параллели; тест-культуру инкубировали с растворами антимикробных препаратов:

1. Гентамицин, индивидуально: в концентрациях 1,25 мкг/мл (1МИК); 0,313 мкг/мл (1/4МИК)
2. Диоксидин, индивидуально: в концентрации 2,5 мкг/мл (1МИК); 0,625 мкг/мл (1/4МИК)
3. Комбинации двух агентов: 1МИК+1МИК, 1МИК+1/4МИК (каждого агента)
4. Питательный МХБ без антибиотика для определения контрольной ОП.

Данные выражали в виде Lg КОЕ/мл в каждый промежуток времени: Lg от числа выживших колониеобразующих единиц (КОЕ/мл).

Метод ингибиции культуры во времени осуществляли с помощью техники микроразведений в МХБ, в 96-луночном микропланшете. Тест-штамм протестирован против каждого антимикробного агента (гентамицина и

диоксидина) индивидуально и в комбинации. Из изолированных колоний тест-штаммов готовили суспензию по стандарту мутности McFarland 0,5 с последующим разведением до концентрации 10^5 КОЕ/мл в 10 мл среды МХБ, содержащей соответствующую концентрацию антимикробных средств. Пробирки инкубировали при 37°C. Отбор проб осуществляли на 0 ч, 2 ч, 6 ч и 24 ч. Результаты подсчета КОЕ в точках 0 ч и 24 ч использовали для определения синергизма.

2.7.4. Определение длительности антимикробной активности образцов костного цемента

Для изучения влияния природы и концентрации антибиотиков на длительность антимикробного действия образцов костного цемента готовили 5 групп образцов. Контрольные образцы готовили из костного цемента DEPUY CMW 1 GENTAMICIN, содержащего 4,22% гентамицина, без внесения дополнительного антибиотика. Для получения опытных образцов в асептических условиях 20 г сухого вещества смешивали с соответствующим количеством дополнительного антибиотика: ванкомицином 1 г (5 мас.%) или 2 г (10 мас.%) или фосфомицином 2 г (10 мас.%) или 4 г (20 мас.%). Далее, полученную сухую смесь перемешивали с необходимым количеством мономера и формировали образцы, необходимой формы. Готовили пластины размером: 2x15x10 мм. В каждую группу входило по пять образцов костного цемента существенно не различающихся по массе ($0,54 \pm 0,02$ г).

Оценку антимикробной активности проводили в отношении штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC6538 (MSSA), *Staphylococcus aureus* ATCC33591 (MRSA), *Klebsiella pneumoniae* ATCC33495 и *Escherichia coli* ATCC25922. Культуры штаммов приводили к стандартной мутности 0,5 McFarland и использовали для получения бактериального газона на поверхности плотной питательной среды (агар Мюллер-Хинтон, «OXOID», Великобритания).

Каждый образец помещали в отдельный стерильный контейнер (бакпечатка, «Медполимер», РФ), содержащий 2 мл инкубационного раствора (0,9% NaCl), и

инкубировали в течение суток (37°C, 100 об/мин). На следующие сутки образец переносили в новый контейнер со свежим раствором и продолжали инкубировать в прежних условиях в течение суток. После каждых суток инкубации 10 мкл раствора наносили в дубликатах на газон бактериальной культуры в чашках Петри и далее инкубировали 18 часов при 37°C. Процедуру повторяли в течение 28 суток. Об антимикробной активности исследуемого образца судили по наличию зоны лизиса бактериальной культуры в области нанесения 10 мкл инкубационного раствора (рис. 2.5).

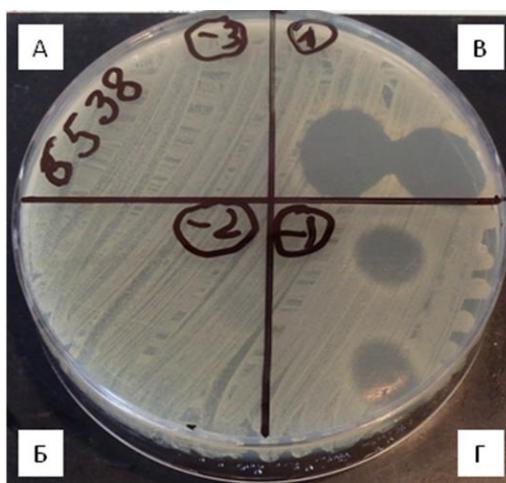


Рисунок 2.5 Интерпретация результатов с учетом зон лизиса
А, Б – (-) результаты; В, Г – (+) положительные результаты

2.8 Экспериментальные *in vivo* методы исследований

2.8.1. Экспериментальная модель *in vivo* для изучения динамики клинико-морфологических изменений при развитии стафилококковой имплантат-ассоциированной инфекции

В связи с тем, что перипротезная инфекция представляет собой частный случай имплантат-ассоциированной инфекции (ИАИ) в своей модели в качестве ортопедических имплантатов мы использовали инфицированные спицы Киршнера.

Характеристика возбудителя. Штамм *S. epidermidis* (лабораторный номер 1341/12) выделен с ортопедической конструкции, удаленной в ходе saniрующей операции, от пациента с перипротезной инфекцией. Данный штамм *S. epidermidis*, являясь метициллинорезистентным (MRSE), характеризовался множественной антибиотикорезистентностью. Результаты исследования пленкообразующих свойств штамма позволили отнести его к сильным биопленкообразователям (ОП=0,566) и включить его в разработку модели ИАИ у крыс.

Для инокуляции имплантируемых фрагментов спиц готовили бактериальную суспензию с использованием суточной бульонной культуры *S. epidermidis* 1341/12: после приведения ОП к 0,5 McF, далее стерильно разбавляли в 100 раз. Полученную суспензию 10^6 КОЕ/мл использовали в эксперименте. Для подготовки инфицированных имплантатов фрагменты спиц Киршнера (длина 2 см, диаметр 2 мм) погружали в бактериальную суспензию на 24 часа, вынимали, давали стечь излишкам жидкости и высушивали на стерильной фильтровальной бумаге.

Опыты были выполнены на 30 крысах (самцах) породы Wistar, массой 200–250 г. Содержание и использование лабораторных животных соответствовало правилам ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» и рекомендациям Национального Совета по исследованиям и национальным законам и подробно описаны в разделе 2.2 данной главы.

Моделирование ИАИ осуществляли посредством двухэтапного оперативного вмешательства. Каждый этап проводили под внутривенным кетаминным наркозом в асептических условиях. После обработки операционного поля у наркотизированных животных фиксировали левую заднюю конечность. Выполняли послойный разрез в области надмышечка бедренной кости. На первом этапе через межмышечковое углубление бедренной кости спицей Киршнера диаметром 1,2 мм перфорировали костномозговой канал и расширяли его путем введения спицы большего диаметра (от 1,4 до 2,0 мм). Затем животным опытной группы (n=15) в костномозговой канал вносили 0,5 мл микробной взвеси суточной культуры *S. epidermidis* 10^6 КОЕ/мл, устанавливали инфицированную

спицу Киршнера, выступающий край которой с целью фиксации загибали к мышелку (рис. 2.6). Далее обрабатывали послеоперационную рану антисептиком и накладывали 1 адаптационный шов (Монамит 2-0). Повязку не накладывали. Животным контрольной группы (n=15) имплантировали стерильную спицу в костномозговой канал бедренной кости аналогичным образом, но не вводили микробную взвесь.



Рисунок 2.6. Установка имплантата в костномозговой канал бедренной кости

Второй этап оперативного вмешательства выполняли на 14-е сутки после первого. Наркотизированным животным обеих групп в асептических условиях производили разрез 0,7–1,0 см в области мышелка большеберцовой кости, остро и тупо выделяли металлоконструкции (направляли для микробиологического исследования). Животным опытной группы дополнительно выполняли санацию гнойного очага. После промывания канала бедренной кости 0,5% раствором хлоргексидина, образовавшийся костный дефект в проксимальном отделе кости замещали блоковидным спейсером, изготовленным из костного цемента с гентамицином (CMW1 Gentamicin, DePuy), размером 0,2x1,2 см (рис. 2.7). Далее обрабатывали послеоперационную рану антисептиком и накладывали два адаптационных шва (Монамит 2-0).

В ходе эксперимента контролировали общее состояние и поведенческие реакции животных, потребление воды и корма. Оценивали клинические симптомы воспаления операционной раны и оперированной конечности. На 7, 14 и 28 сутки выполняли динамическую оценку массы тела, окружности оперированного бедра, ректальной температуры животных, клинический анализ крови, полученной из полости сердца. В указанные сроки после эвтаназии

экспериментальных животных, выполняли взятие образцов для бактериологических и морфологических исследований тканевых биоптатов (кожи, мышц, кости и костного мозга); бактериологического исследование удаленных имплантатов (спиц, спейсеров).



Рисунок 2.7 Установка цементного спейсера после удаления спицы Киршнера из костномозгового канала бедренной кости

2.8.2. Экспериментальная модель *in vivo* для оценки эффективности профилактики имплантат-ассоциированной инфекции при локальном использовании разработанной антимикробной композиции

Для экспериментального обоснования разработанного способа профилактики 25 кроликам обоих полов породы Шиншилла массой 3–3,5 кг выполняли операцию по имплантации спицы Киршнера в костномозговой канал бедренной кости. Содержание и использование лабораторных животных соответствовало правилам ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» и рекомендациям Национального Совета по исследованиям и национальным законам и подробно описано в разделе 2.2 данной главы.

Для моделирования имплантат-ассоциированной инфекции имплантат и окружающие его ткани инфицировали двумя миллилитрами суточной бульонной культуры штамма *S. aureus* ATCC 6538, содержащей 1×10^8 КОЕ/мл. Животным I (основной) группы (n=9) под внутривенным кетаминным наркозом в

асептических условиях фиксировали заднюю конечность. Продольным разрезом обнажали бедренную кость. Через вертел бедренной кости при помощи дрели и металлического сверла перфорировали костномозговой канал (рис. 2.8 А).



А

Б

В

Рисунок 2.8. Этапы имплантации спицы Киршнера в костномозговой канал бедренной кости кролика

А – перфорация костномозгового канала дрелью,

Б – расширение канала спицей Киршнера,

В – установка и фиксация спицы Киршнера в костномозговом канале

Затем проводили расширение канала спицей Киршнера диаметром 2,5 мм до глубины 30 мм (рис. 2.8 Б), далее в полость канала вводили 0,5 мл микробной взвеси и орошали рану 1,5 мл микробной взвеси, после чего через 1–2 минуты устанавливали спицу Киршнера длиной 30 мм и диаметром 2,5 мм (рис. 2.8 В), предварительно обработанную разработанной антимикробной полимерной композицией, дополнительно 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) также моделировали имплантат-ассоциированную инфекцию, но 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) также моделировали имплантат-ассоциированную инфекцию (по приведенной выше схеме), но не проводили

профилактику дооперационным введением цефтриаксона или интраоперационным введением антимикробной композиции.

У всех животных в ходе эксперимента оценивали изменения температуры и массы тела, окружности оперированного бедра в динамике на 5-е, 7-е и 14-е сутки, а также выполняли клинический анализ крови и определяли С-реактивный белок (СРБ) в сыворотке крови до операции и в динамике на 7-е и 14-е сутки. Ежедневно оценивали общее состояние животных – поведение, потребление пищи и воды; отмечали наличие клинических признаков воспаления (отек, гиперемия, нарушение функции), измеряли ректальную температуру. Животных выводили из опыта на 14 сутки после операции для исследования микробной обсемененности удаленных конструкций (спиц Киршнера) и тканевых биоптатов из области хирургического вмешательства, а также антимикробной активности мышечной ткани.

2.8.3. Клинико-лабораторные, бактериологические и патоморфологические исследования, используемые в экспериментах *in vivo*

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 РНИИТО им. Р.Р. Вредена. В эксперименте на кроликах для определения антимикробной активности, создаваемой в мышечной ткани в результате предлагаемого способа, на 14-е сутки после установки имплантатов брали тканевые биоптаты из области хирургического вмешательства (3 образца от каждого экспериментального животного). Пробы мышечной ткани гомогенизировали и далее готовили разведения 1:10 в физиологическом растворе.

Далее 10 мкл приготовленного раствора наносили на стерильные бумажные диски диаметром 6 мм (аналогичные дискам для определения антибиотикочувствительности, но не нагруженные антибиотиком), которые помещали на чашки с агаром Бэрда-Паркера, предварительно засеянные газоном, тест-культурой *S. aureus* (100 мкл микробной суспензии $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл). Засеянные чашки с дисками термостатировали в течение 24 ч при 37°C, после чего оценивали зоны ингибиции роста стафилококка.

Для оценки микробной обсемененности инфицированных тканей осуществляли количественный посев исходного гомогенизата и разведений на чашки с кровяным агаром, по 100 мкл. Инкубировали 24 ч при 37°C, после чего подсчитывали количество колоний на чашках и оценивали число микробных клеток в 1 г ткани.

Для исследования микробных биопленок, сформированных на имплантатах, удаленные спицы помещали в стерильные контейнеры с физиологическим раствором в количестве 10:1 относительно массы фрагмента и обрабатывали ультразвуком в течение 5 минут при мощности 300 Вт и номинальной частоте 40 кГц. Затем высеивали по 100 мкл суспензии на чашки с агаром Бэрда-Паркера. Инкубировали 24 ч при 37°C, после чего подсчитывали количество колоний на чашках и оценивали микробную обсемененность спицы.

Морфологические исследования выполняли в экспериментально-морфологическом отделении РНИИТО им. Р.Р. Вредена. Для патоморфологического исследования перифокальных изменений при *in vivo* моделировании имплантат-ассоциированной инфекции у крыс отделяли костно-мягкотканый блок из средней трети бедра задней левой конечности. Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. После фиксации декальцинировали в 25% растворе органической кислоты «Трилон Б». После традиционной проводки и заливки в парафин изготавливали серийные срезы толщиной 8 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Патоморфологический анализ 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). При морфологическом исследовании микропрепаратов из области костного дефекта оценивали состояние тканей, окружающих имплантат, и признаки инфекционно-воспалительного процесса: лейкоцитарную инфильтрацию, наличие секвестров и другие.

2.9. Методы фармакоэкономического анализа

Изучение влияния системы разработанных мер по оптимизации антибактериальной терапии стафилококковой перипротезной инфекции проводили с применением фармакоэкономического анализа, который включал ABC-анализ финансовых затрат ЛПУ на лечение пациентов с ППИ, исследование потребления антибиотиков с применением DDD-анализа и клинико-экономическую оценку эффективности лечения ППИ в зависимости от различных факторов.

2.9.1. Исследование потребления антибактериальных препаратов методом ABC-анализа

В основе ABC-анализа лежит правило Парето, открытое в 1897 г. итальянским экономистом Вильфредо Парето (Vilfredo Pareto, 1848–1923 гг.), которое гласит: 20% ассортиментных позиций приносит 80% прибыли. ABC-анализ является модификацией закона Парето (Ивлев В., Попова Т., 2008).

Данные по расходу АМП в гнойном отделении института получены на основе отчетов компьютерной программы «1С: Аптека» (1С: Предприятие 7.7) по 2012 год включительно и на основе компьютерной программы «Ариадна» с 2013, в которой ведется учет закупа и потребления лекарственных средств и расходных материалов. В процессе анализа все лекарственные препараты ранжировали по уровню затрат от наибольших к наименьшим.

Согласно Приказу МЗ РФ №494 от 22.10.2003 г. распределение по группам происходит следующим образом:

- √ группа А – лекарственные препараты, на которые тратится 70–80% средств для покупки медикаментов,
- √ группа В – лекарственные препараты, на которые тратится менее 20% средств для покупки медикаментов,
- √ группа С – лекарственные препараты, на которые тратится 5–7% от всех средств для покупки медикаментов,

Для учета результатов анализа, построения диаграмм использовали программные ресурсы пакета Microsoft Office Excel, 2007.

2.9.2. DDD-анализ

Количественный анализ динамики потребления антимикробных препаратов в отделении гнойной хирургии за 8-летний период выполнен с использованием DDD-методологии. DDD — это средняя поддерживающая доза (defined daily dose) лекарственного препарата при использовании его по основному показанию для взрослого человека массой тела 70 кг, разработана Центром ВОЗ по методологии лекарственной статистики. Для пероральных и парентеральных форм выпуска использовались разные DDD, что было использовано для оценки применения ступенчатой терапии в лечении пациентов с ППИ. В данной работе в качестве единицы измерения использовалось количество граммов активного вещества. Количественные данные о потреблении антимикробных препаратов, представленные с использованием рекомендуемой ВОЗ методологии DDD, дают представление о доли пациентов, получающих определенный препарат/группу препаратов, позволяют сравнивать потребление АМП за разные периоды времени и между разными отделениями лечебного учреждения. DDD-анализ является методом экспертизы рациональности назначения лекарств, который дает общую

картину, позволяющую принимать соответствующие управленческие решения (Дьяченко С.В. с соавт., 2006).

Рассчитывали все антимикробные препараты в совокупности, по группам согласно индексу АТС/DDD ВОЗ за 2011 год (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, аминогликозиды, фторхинолоны, линкозамиды, гликопептиды, тетрациклины, нитроимидазолы, прочие антибиотики), отдельно по международным непатентованным наименованиям препаратов (МНН) и их формам введения (пероральные и парентеральные). В данной работе использован показатель DDD на 100 койко-дней, т.к. он является наиболее наглядным в оценке потребления АМП, позволяет проводить сравнение потребления препаратов внутри одного ЛПУ и оценивать изменения в потреблении препаратов с течением времени.

Методика расчета была следующей:

1. С помощью компьютерных программ «1С: Аптека» и «Ариадна» были сформированы отчеты о потреблении каждого АМП препарата в граммах за каждый год – 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013 и 2014 гг. в отделении гнойной хирургии;

2. Для каждого препарата рассчитывали количество использованных суточных доз за указанные годы. Для этого делили количество каждого препарата в граммах на DDD – условную суточную лечебную дозу каждого препарата. DDD для каждого препарата брали на сайте Всемирной Организации Здравоохранения в соответствии с разделом J01 (антибиотики для системного применения), согласно АТС/DDD классификации установленной в 2011 году (Guidelines for ATC classification and DDD assignment);

3. Количество использованных суточных доз в отделении делили на количество койко-дней, полученную цифру умножали на 100 и получали искомый коэффициент: DDD на 100 койко-дней (DDD/100 к/д).

2.9.3. Клинико-экономический анализ эффективности лечения ППИ

Для оценки структуры финансовых затрат на выполнение saniрующего этапа при лечении ППИ и определения доли средств, затраченных на антибактериальную терапию, был выполнен расчет показателя «стоимости болезни» (ПСтБ). Кроме того был проведен анализ эффективности затрат в зависимости от типа saniрующего оперативного вмешательства, характера возбудителя (наличия резистентности к метициллину), схем стартовой антибактериальной терапии и методов локальной антибактериальной терапии. Данный раздел работы основан на исследовании эффективности лечения и финансовых затрат на него у 252 пациентов проспективной группы, информация о которой представлена в разделе 2.1 данной главы.

2.9.3.1. Расчет «стоимости болезни»

Так как задачей исследования был расчет фактической «стоимости болезни» (ПСтБ – показатель стоимости болезни), то учитывались 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. Выполнение анализа «стоимости болезни» в первую очередь оправдано в рамках отдельных медицинских учреждений для оптимизации расчетов тарифов на медицинскую помощь.

Расчет средней стоимости лечения данной болезни в данном медицинском учреждении выполняли по формуле:

$$C = \frac{COI1 + COI2 + COI3... + COIn}{N}, \quad (2.2)$$

где

C – средний показатель стоимости болезни;

COI 1, 2, 3... n – показатель стоимости у 1-го, 2-го, 3-го, ..., n -го пациента;

N – число пациентов, принятых в расчет.

Для учета результатов исследования использовали программные ресурсы пакета Microsoft Office Excel, 2007.

2.9.3.2. Анализ эффективности затрат при изучении влияния различных взаимоисключающих факторов при лечении пациентов с ППИ

У 252 пациентов проспективной группы (рис. 2.1) проведен клинико-экономический анализ оценки затратной эффективности взаимоисключающих факторов:

- видов оперативного вмешательства: санация без удаления эндопротеза или санация с удалением эндопротеза и установкой антимикробного спейсера;
- характера штамма-возбудителя: MR или MS-штамм стафилококка;
- схемы стартовой терапии ППИ, обусловленной MS-штаммами стафилококков: бета-лактамы (ампициллин/сульбактам или амоксицилин/клавуланат) в комбинации с цiproфлоксацином или ванкомицин в комбинации с цiproфлоксацином;
- метода локальной антимикробной терапии: интраоперационное промывание раны лавасептом или орошение разработанной гелевой антимикробной композицией;
- природы антибиотика для импрегнации костного цемента: ванкомицин или фосфомицин.

Анализ выполняли с помощью метода «CEA» (Cost-effectiveness analysis).
Синонимы – анализ эффективности затрат; метод затратной эффективности; затрат и эффективности; стоимости-эффективности.

СЕА – тип клинико-экономического анализа, при котором проводят сравнительную оценку результатов и затрат при двух и более вмешательствах, эффективность которых различна, а результаты измеряются в одних и тех же единицах. При проведении данного вида фармакоэкономического анализа возникла необходимость выбора критериев оценки эффективности. В качестве наиболее адекватного показателя клинической эффективности антибактериальной терапии был выбран процент больных без рецидива перипротезной инфекции в течение 1 года после санирующей операции.

Обычно, анализ эффективности затрат рассчитывают по формуле (Ю.Б.Белоусов с соавт., 2000):

$$CEA = (DC + IC) / Ef, \quad (2.3),$$

где

СЕА – соотношение «затраты/эффективность» (выявляет затраты, необходимые на единицу эффективности, например, на одного вылеченного больного),

DC – прямые затраты,

IC – непрямые затраты,

Ef – эффективность лечения (относительное количество вылеченных больных).

Однако анализ непрямых затрат в нашем исследовании не проводился, т.к. оценка затрат на оплату больничных листов, стоимость производственных потерь, выплаты пенсий по инвалидности 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 преобразована:

$$CEA = (DC) / Ef, \quad (2.4)$$

где

СЕА — соотношение «затраты/эффективность» (выявляет затраты, необходимые на единицу эффективности, например, на одного вылеченного больного),

DC — прямые затраты,

Ef — эффективность лечения (относительное количество вылеченных больных)

2.10. Регистрация полученных результатов и статистическая обработка данных и количественных результатов

Полученные результаты экспериментов и данные пациентов регистрировали в виде электронных таблиц MS Office Excel, 2007 (Microsoft, США) и 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).

Анализ на подчинение анализируемых выборок закону нормального распределения проводили тестом Холмогорова-Смирнова. В случае неподчинения выборки закону нормального распределения в качестве меры центральной тенденции для таких признаков использовали медиану (Me), а 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, который иногда называют критерием Вилкоксона для непарных выборок (Wilcoxon rank sum test) (Гржибовский А.М., 2008). В случае, когда распределение признаков не отличалось от нормального, полученные данные представляли с помощью среднего арифметического (Mcp) и 95% доверительного интервала (ДИ 95%), различия между группами оценивали с помощью T-критерия Стьюдента. Статистический анализ номинальных переменных для сравнения частоты

встречаемости признака использовали Z-критерий стандартного нормального распределения для оценки разности между долями (Сергиенко В.И., Бондарева И.Б., 2000). Сопоставление частотных характеристик для оценки влияния факторов на зависимую переменную проводили с помощью непараметрических методов χ^2 , χ^2 с поправкой Йетса, и расчета относительного риска (ОР) с 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. Интерпретацию коэффициента корреляции производили исходя из уровня силы связи:

$r > 0,01 \leq 0,29$ – слабая положительная связь,

$r > 0,30 \leq 0,69$ – умеренная положительная связь,

$r > 0,70 \leq 1,00$ – сильная положительная связь,

$r > -0,01 \leq -0,29$ – слабая отрицательная связь,

$r > -0,30 \leq -0,69$ – умеренная отрицательная связь,

$r > -0,70 \leq -1,00$ – сильная отрицательная связь.

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

ГЛАВА 3. РОЛЬ СТАФИЛОКОККОВ В ЭТИОЛОГИИ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ, ПРОФИЛЬ ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ И ВЛИЯНИЕ МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ

В данной главе рассматривается роль различных представителей *Staphylococcus* spp. (n=2268) в этиологической структуре инфекции протезированного сустава у 1706 пациентов, проходивших лечение в отделении гнойной хирургии Российского НИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена за 8-летний период наблюдения (2007–2014 гг.). Представлены результаты анализа динамики профиля резистентности представителей *Staphylococcus* spp., преобладающих в этиологии перипротезной инфекции.

В целом, за весь период исследования в видовом спектре возбудителей ППИ (рис. 3.1) ведущие позиции занимают два вида стафилококков (*S. aureus* и *S. epidermidis*) – 49,9%, далее следуют: *Enterococcus faecalis* – 6,4%, представители неферментирующих грамотрицательных бактерий (*Acinetobacter* spp. и *P. aeruginosa*) – 11% и представители семейства энтеробактерий (*E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *E. coli*) – 4,1%.

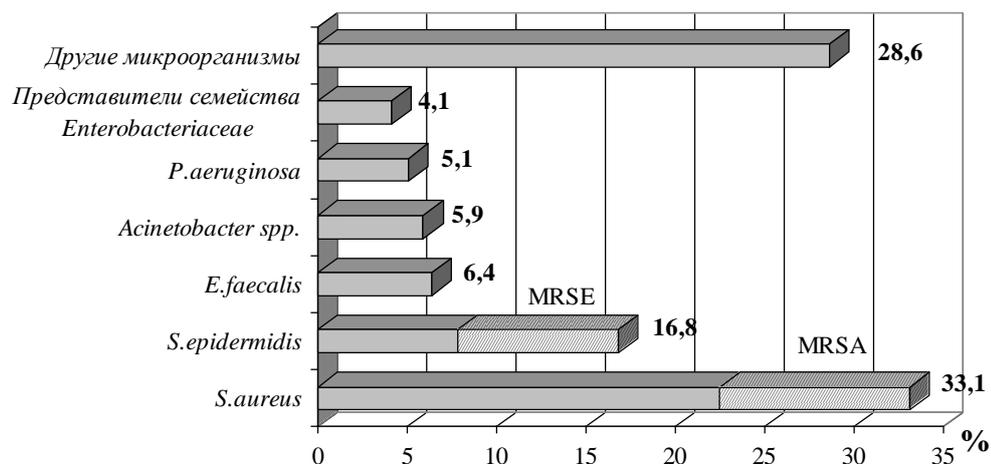


Рисунок 3.1. Видовая структура ведущих возбудителей ортопедической имплантат-ассоциированной инфекции за период 2007–2014 гг.

3.1. Доля представителей *Staphylococcus* spp. в спектре возбудителей инфекции протезированных суставов

Анализ структуры выделенных за исследуемый период штаммов показал (рис. 3.2), что ведущие позиции в спектре возбудителей перипротезной инфекции занимают Гр(+) микроорганизмы. При этом установлено, что с 2007 по 2014 гг. в видовой структуре возбудителей перипротезной инфекции с участием Гр(+) микроорганизмов основная роль принадлежит стафилококкам: 87,8, 85,6, 81,4, 89,6, 88,1, 82,1, 80,9 и 80,0% за каждый исследуемый год, соответственно.

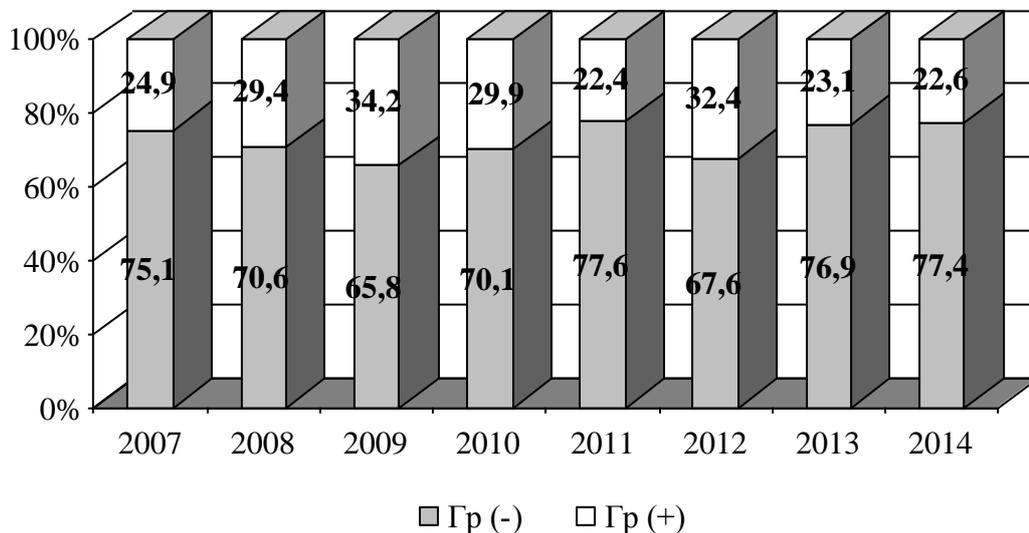


Рисунок 3.2. Соотношение грамположительных и грамотрицательных возбудителей перипротезной инфекции в динамике за 8 лет

С учетом того, что частота выделения основных видов стафилококков существенно не менялась за исследуемый период времени, дальнейший анализ видовой структуры *Staphylococcus* spp. проводился по объединенным данным за весь период исследования. Установлено подавляющее преобладание в структуре стафилококковой перипротезной инфекции *S. aureus* и представителя коагулазонегативных стафилококков (КНС) – *S. epidermidis* (93%) (рис. 3.3). Другие виды КНС выделены в 8,7% случаев, в том числе *S. haemolyticus* (1,7%), *S. warneri* (1,4%), *S. hominis* (0,9%).

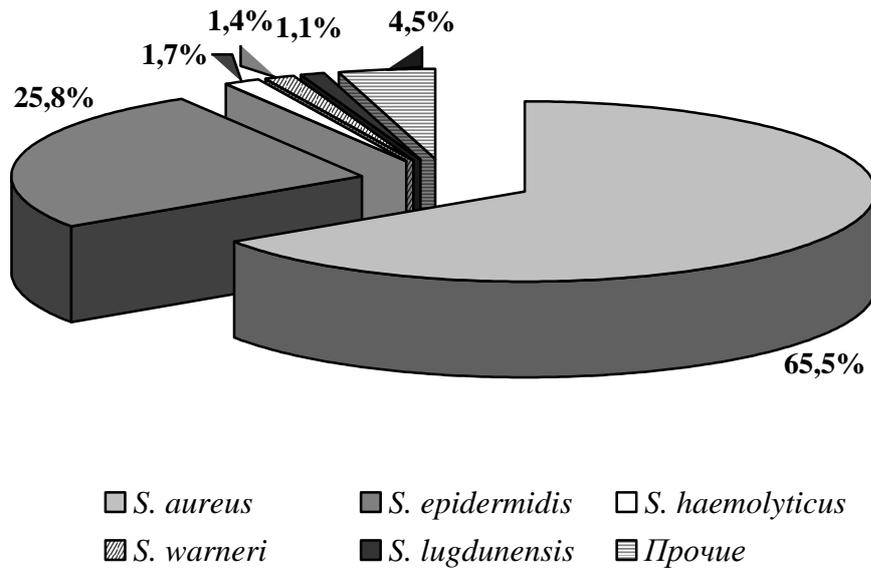


Рисунок 3.3. Видовая структура стафилококков (n=2268) – возбудителей инфекции протезированных суставов

3.2. Антибактериальная резистентность штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* – ведущих возбудителей ППИ

3.2.1. Метициллинорезистентность изолятов *Staphylococcus* spp.

В результате проведенного исследования установлено, что среди всех, включенных в исследование штаммов стафилококков, *S. epidermidis* характеризуются более высоким ($p < 0,05$) уровнем резистентности к метициллину (56,2% vs. 24,9%) по сравнению со *S. aureus*. Метициллинорезистентные штаммы выделяются значительно чаще ($p < 0,01$) из биологических материалов, чем с удаленных ортопедических конструкций: 53 и 35,6% соответственно. Изучение динамики метициллинорезистентности показало, что распространенность MRSA с 2007 по 2009 год практически не изменялась (32,8%, 30,3% и 30,4% за каждый указанный год соответственно), после чего наметилась тенденция к снижению доли MRSA (рис. 3.4). В 2012 г. данный показатель снизился до 20,4% и до конца

срока наблюдения был значимо ниже, чем в 2007 г. ($p < 0,05$). Динамика доли MRSE была не столь однозначна: за период 2007–2009 гг. данный показатель вырос более чем в 2 раза до 78,3% в 2009 г., после чего несколько снизился, однако в течение последующего периода наблюдения значимо превышал показатель 2007 года (рис. 3.4). Анализ антибиотикорезистентности других видов коагулазонегативных стафилококков не проводился в связи с малым количеством выделенных штаммов (суммарно за 8 лет от 16 до 35 штаммов).

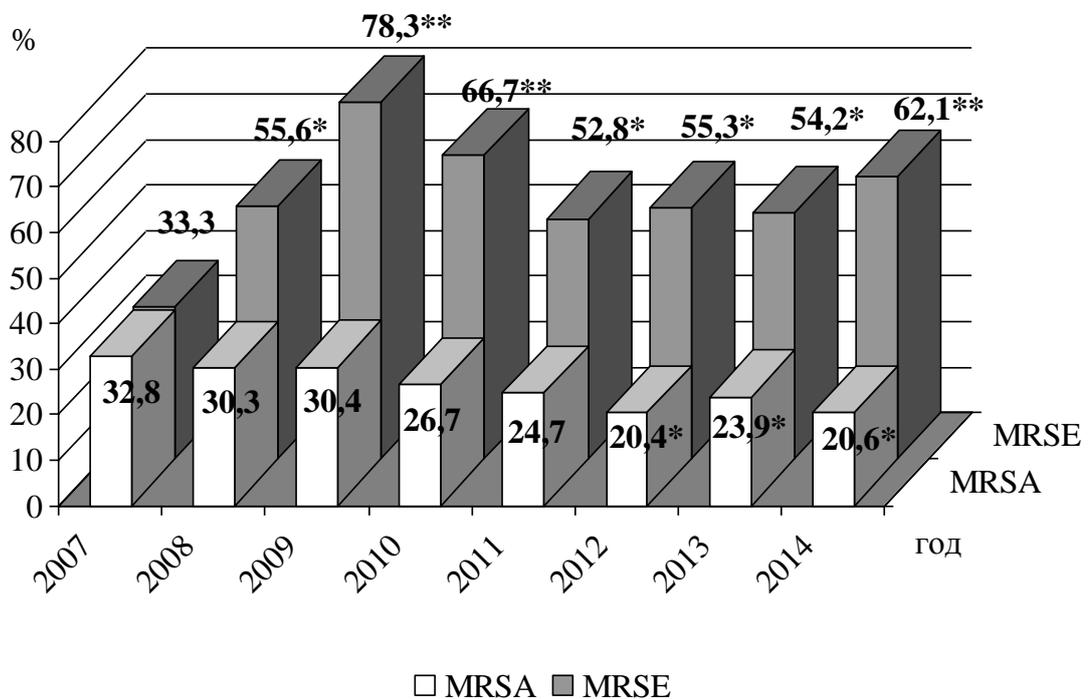


Рисунок 3.4. Частота выделения метициллинорезистентных штаммов *S. aureus* ($n=1443$) и *S. epidermidis* ($n=554$), от пациентов с ППИ, за период 2007–2014 гг.

Примечание:

* – $p < 0,05$ в сравнении с 2007 г.

** – $p < 0,01$ в сравнении с 2007 г.

3.2.2. Профиль резистентности штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* к антибиотикам за период 2007–2009 гг.

Анализ антибиотикочувствительности за первые 3 года наблюдения (2007–2009 гг.) показал, что наиболее активными в отношении штаммов стафилококков были ванкомицин и рифампицин (рис. 3.5 и 3.6). Выявлено нарастание устойчивости штаммов *S. epidermidis* к ципрофлоксацину, гентамицину, эритромицину, по-видимому, сопряженное с ростом метициллинорезистентности (рис. 3.6), которая за указанный период времени возросла с 33,3 до 78,3%. В связи с выраженным влиянием метициллинорезистентности на чувствительность к другим группам антибиотиков, нами принято решение о проведения мониторинга резистентности стафилококков с учетом их чувствительности к метициллину. Для этого анализ профиля антибиотикорезистентности за 2010–2012 гг. был выполнен с учетом не только вида стафилококка, но и его метициллинорезистентности (MR). Для чего были внесены изменения в систему регистрации результатов бактериологических исследований «Микроб-2» – введены отдельные позиции для MS- и MR-штаммов золотистого и эпидермального стафилококков.

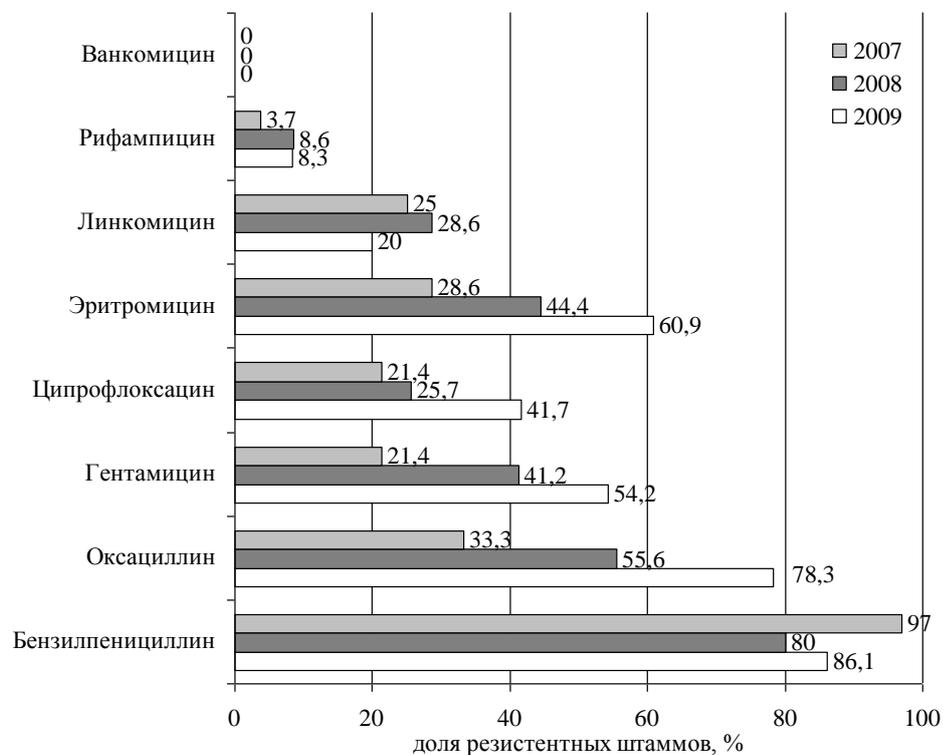


Рисунок 3.5. Динамика антибиотикорезистентности (%) госпитальных штаммов *S. aureus* за период 2007–2009 гг. (n=372)

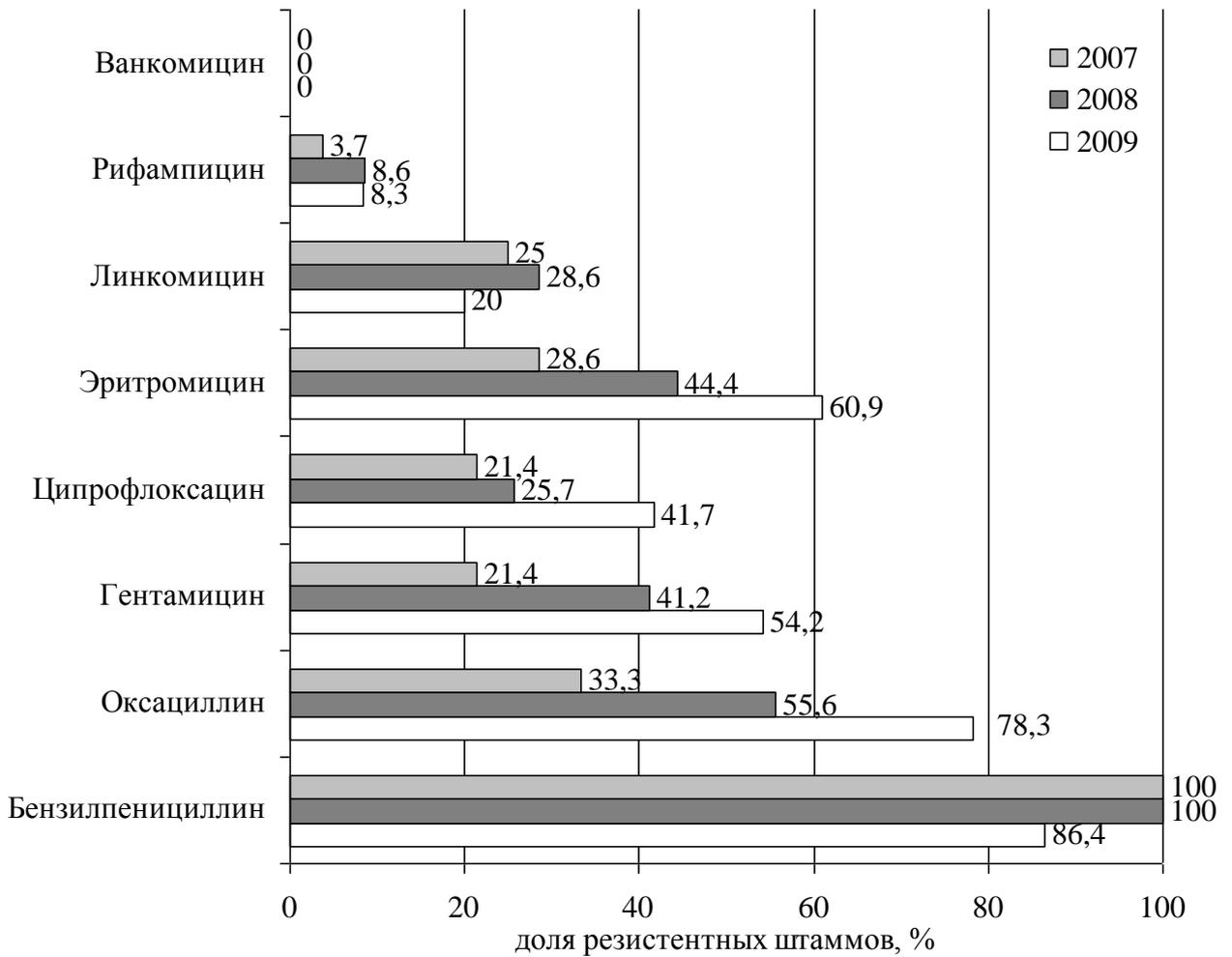


Рисунок 3.6. Динамика антибиотикорезистентности (%) госпитальных штаммов *S. epidermidis* за период 2007–2009 гг. (n=102)

Помимо мониторинга антибиотикочувствительности к препаратам, уже входящим в формулярный перечень клиники института для решения вопроса о включении в него дополнительных антибиотиков, активных в отношении стафилококков в 2009 г. был проведен анализ чувствительности выделяемых штаммов к дополнительному перечню антибиотиков. Как видно из таблицы 3.1 наиболее перспективными для введения в формулярный перечень антибактериальными препаратами с антистафилококковой активностью были линезолид, фосфомицин, моксифлоксацин. Кроме того, в формулярный перечень были введены ко-тримоксазол и препарат из группы тетрациклинов (доксициклин) для назначения в составе комбинированной антибактериальной

терапии перипротезной инфекции. Что касается клиндамицина, введение его в формулярный перечень было расценено как нецелесообразное из-за его низкой активности к ведущим возбудителям перипротезной инфекции.

Таблица 3.1

Резистентность ведущих грамположительных возбудителей перипротезной инфекции к дополнительному перечню антибактериальных препаратов в 2009 г.

Антибактериальный препарат	Резистентность, %	
	<i>S. aureus</i> (n=102)	<i>S. epidermidis</i> (n=23)
Клиндамицин	22,5	68,2
Линезолид	0	0
Моксифлоксацин	16,3	5
Ко-тримоксазол	2	22,2
Фосфомицин	8	9,5
Тетрациклин	22,8	40,9

3.2.3. Профиль антибиотикорезистентности штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* с учетом устойчивости к метициллину в 2010–2014 гг.

Анализ антибиотикограмм 1523 штаммов стафилококков, выделенных за период 2010–2014 гг., свидетельствует о том, что в течение рассматриваемого периода времени чувствительность этих главных этиологических агентов, включая метициллинорезистентных, сохраняется на уровне 100% к ванкомицину и линезолиду. В течение указанного периода высокий уровень чувствительности к большинству тестируемых антибиотиков сохраняли штаммы MSSA, резистентность которых была высока, традиционно, лишь к пенициллину (77%), а к прочим антибиотикам показатели резистентности составили 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%), и,

наоборот, к другим антибиотикам резистентность MSSE была выше и составила в среднем 14,9% (1,5–35,5%) (табл.3.2).

Таблица 3.2

Резистентность штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* в зависимости от чувствительности к метициллину 2010–2014 гг., %

МНН лекарственного средства	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

Установлено, что профили чувствительности к антибиотикам у метициллинорезистентных стафилококков были менее благоприятными (табл. 3.2). Устойчивость представителей обоих исследуемых видов была высокой к гентамицину и ципрофлоксацину (67–78%), штаммы MRSA продемонстрировали значимо большую резистентность к моксифлоксацину ($p < 0,05$), а MRSE – к тетрациклину, ко-тримоксазолу, клиндамицину и эритромицину ($p < 0,05$).

Антибиотиком, наиболее активным после гликопептидов, линезолида и тигециклина, выступает фосфомицин, к которому были чувствительны около 90% всех исследованных штаммов. К ко-тримоксазолу, наряду с фосфомицином, сохраняют высокую чувствительность около 80% изолятов MRSA. Рифампицин сохранил эффективность в отношении 74–75% метициллинорезистентных штаммов стафилококков обоих видов.

3.2.4 Динамика уровня антибиотикорезистентности штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* за период 2010–2012 гг.

В таблице 3.2 представлены результаты исследования динамики антибиотикорезистентности исследуемых MS-штаммов за 2009–2014 гг. Установлено, что независимо от вида стафилококка, пятилетняя динамика резистентности к большинству антибиотиков была незначительной. Исключение для MSSA составил 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% ($p < 0,05$).

Более значительные изменения профиля резистентности установлены для изолятов, резистентных к метициллину (табл. 3.3). В течение пяти лет установлено значимое увеличение доли изолятов MRSA, резистентных к ципрофлоксацину с 63,6 до 93,5% ($p < 0,01$), 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% ($p < 0,05$). Кроме того, обращает внимание повышение устойчивости штаммов MRSE к рифампицину с 8,7 до 24,4% ($p > 0,05$).

Динамика уровня антибиотикорезистентности метициллиночувствительных штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis*
за 2010–2014 гг., %

МНН лекарственного средства	MSSA					MSSE				
	2010 (n=99)	2011 (n=146)	2012 (n=164)	2013 (n=213)	2014 (n=193)	2010 (n=12)	2011 (n=34)	2012 (n=46)	2013 (n=71)	2014 (n=53)
Бензилпенициллин	79,6	79,4	73,2	73,2	72,1	58,3	53,1	46,9	62,1	54,1
Тетрациклин	5,2	6,9	13,0	3,3	8,8	25	18,2	19,6	18,2	2,4*
Клиндамицин	5,7	5,4	1,3	0,5	1,1*	28,5	0	6,7	3,1	2,4
Эритромицин	6,1	4,9	10,5	4,2	5,8	36,4	37,1	33,3	33,8	26,8
Гентамицин	1	4,2	0,6	2,3	3,6	0	8,8	28,3	10,8	12,2
Ципрофлоксацин	2,2	1,4	6,1	1,4	1,6	10	20,6	14,9	7,7	4,9
Ко-тримоксазол	2,1	0,7	0	0	0	0	26,5	24,4	13,8	7,5
Моксифлоксацин	0	0	1,9	0,5	0	0	0	2,2	3,1	2,4
Рифампицин	0	0	2,5	2,8	1	0	2,9	2,2	3,1	2,4
Фосфомицин	0	0	0,6	0	0	0	0,3	8,9	0	12,2*
Ванкомицин	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Линезолид	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* – $p < 0,05$ при сравнении с 2010 г.

Динамика уровня антибиотикорезистентности метициллиноустойчивых штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis*
за 2010–2014 гг., %

МНН лекарственного средства	MRSA					MRSE				
	2010 (n=36)	2011 (n=48)	2012 (n=42)	2013 (n=67)	2014 (n=50)	2010 (n=24)	2011 (n=38)	2012 (n=57)	2013 (n=84)	2014 (n=87)
Бензилпенициллин	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Тетрациклин	27,8	44,4	34,9	50,7	38	52,2	32,4	43,1	35,7	38,1
Клиндамицин	38,7	53,8	63,4	43,3	61,7*	25	83,3	38,6	24,7	25,3
Эритромицин	36,1	47,8	59,5	41,8	63,8*	50	61,1	66,1	60,7	61,9
Гентамицин	55,6	75,6	83,7	72,9	81,3*	47,8	51,4	87,7	82,4	82,9**
Ципрофлоксацин	63,6	75	92,9	83,6	93,5**	52,4	72,2	69,5	55,3	56,6
Ко-тримоксазол	8,3	15,2	7,3	2,9	10,2	17,4	56,4	50	36	45,1*
Моксифлоксацин	46,9	15,4	74,4	79,1	89,4**	21,1	5,9	33,3	44,7	47,6*
Рифампицин	27	17,4	32,6	27,9	29,8	8,7	22,2	35,6	15,5	24,4
Фосфомицин	16,1	11,1	5,1	10,4	10,9	0	0	5,7	6,2	14,5
Ванкомицин	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Линезолид	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* – $p < 0,05$ при сравнении с 2010 г.,

** – $p < 0,01$ при сравнении с 2010 г.

3.2.5. МИК ванкомицина в отношении клинических штаммов MRSA и MRSE, возбудителей инфекции протезированных суставов

У 193 изолятов MRSA и 96 MRSE методом эпилотметрии (Е-тестов) (Oxoid, Великобритания) были определены минимальные ингибирующие концентрации (МИК) ванкомицина. Несмотря на результаты диско-диффузионного метода, который определил все тестируемые штаммы как чувствительные к ванкомицину, методом Е-тестов установлена гетерогенность тестируемых изолятов стафилококков по уровню МИК ванкомицина (рис. 3.7).

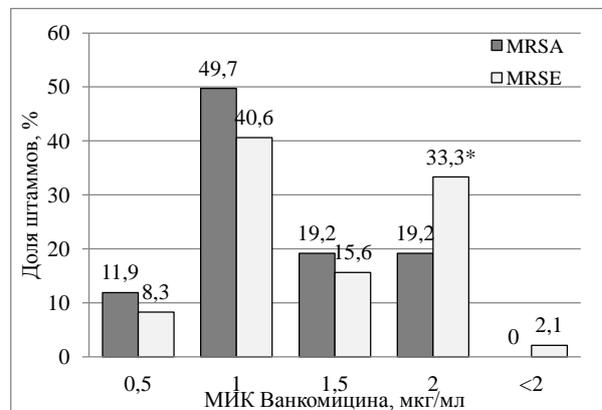


Рисунок 3.7. Распределение по МИК ванкомицина (мкг/мл) клинических штаммов MRSA (n=193) и MRSE (n=96), выделенных от пациентов с ППИ

* – $p < 0,05$ при сравнении с MRSA

Штаммы MRSA с МИК, превышающей 2 мкг/мл выявлены не были. Однако менее 12% штаммов MRSA и 9% MRSE характеризовались МИК ванкомицина 0,5 мкг/мл. При этом доля изолятов с МИК равной или превышающей 2 мкг/мл среди MRSA составила 19,2%, среди MRSE – 35,4% ($p < 0,05$). Уровни чувствительности к ванкомицину с МИК ≤ 1 мкг/мл демонстрировали только 48,9% штаммов MRSE, при этом у 35,4% изолятов данного вида установлены значения МИК ≥ 2 мкг/мл.

3.3. Микробные ассоциации при перипротезной инфекции

Проведенный анализ частоты выделения стафилококков в составе микробных ассоциаций показал, что за исследуемый период времени 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% (табл. 3.4).

Таблица 3.4

Состав микробных ассоциаций с участием *Staphylococcus* spp., выделенных из образцов биоматериалов и с удаленных ортопедических конструкций пациентов с ППИ в 2007–2014 гг.

Ассоциации стафилококков с другими патогенами	Количество ассоциаций, n							
	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
<i>Ассоциации 2-х штаммов</i>								
с Гр(+) бактериями	21	22	12	7	15	28	48	41
с Гр(-) бактериями	20	17	14	18	12	32	47	25
с прочими	4	10	5	3	9	11	31	15
<i>Ассоциации 3-х штаммов</i>								
с Гр(+) бактериями	2	1	1	0	3	2	12	26
с Гр(-) бактериями	3	9	8	5	5	12	16	13
с прочими	1	4	0	1	1	0	2	0
<i>Ассоциации 4-х штаммов</i>								
с Гр(+) бактериями	0	0	0	0	0	0	3	4
с Гр(-) бактериями	1	2	0	2	0	3	11	8
ИТОГО ассоциаций	52	65	40	36	45	88	170	132
ИТОГО изолятов стафилококков	208	214	140	190	275	359	472	408
Доля ассоциаций, %	25	30,4	28,6	18,9	16,4	24,5	36,0	32,3

Анализ динамики количественного состава микробных ассоциаций с участием представителей *Staphylococcus* spp. (рис. 3.8) показал, что за 8-летний

период наблюдения к 2014 году значительно увеличилась доля ассоциаций с 3 и более видами возбудителей ($p < 0,05$). По-видимому, это связано со значительным изменением структуры исследуемых образцов материалов, направляемых от пациентов с ППИ на бактериологическое исследование (табл. 3.5). 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. установлено 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.).



Рисунок 3.8. Динамика количественного состава ассоциаций с участием штаммов *Staphylococcus* spp. за 2007–2014 гг.

* – $p < 0,05$ в сравнении с 2007 г.

Структура образцов материала, направляемого на бактериологическое исследование от пациентов с ППИ, в динамике

Материалы для бактериологического исследования	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Тканевые биоптаты	0,2	1,0	3,3**	4,2**	27,9**	54,8**	62,1**	66,6**
Раневое отделяемое	72,2	68,8	70,4	69,9	53,2**	21,6**	11,2**	6,9**
Аспираты	27,6	30,2	26,3	20,0*	15,3**	12,7**	18,2**	17,9**
Удаленные конструкции	0,0	0,0	0,0	5,9**	3,7**	8,1**	7,1**	6,8**
Удаленные спейсеры	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,8	1,4	1,8

* – $p < 0,05$ в сравнении с 2007 г.

** – $p < 0,01$ в сравнении с 2007 г.

Кроме того, с 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 (рис. 3.9). В то время как ранее частота выделения ассоциаций из тканевых биоптатов была сопоставима с аналогичным показателем для биологических жидкостей и составила в 2011 и 2012 гг. только 7 и 15,5%, соответственно. Кроме того, надо отметить, что 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.

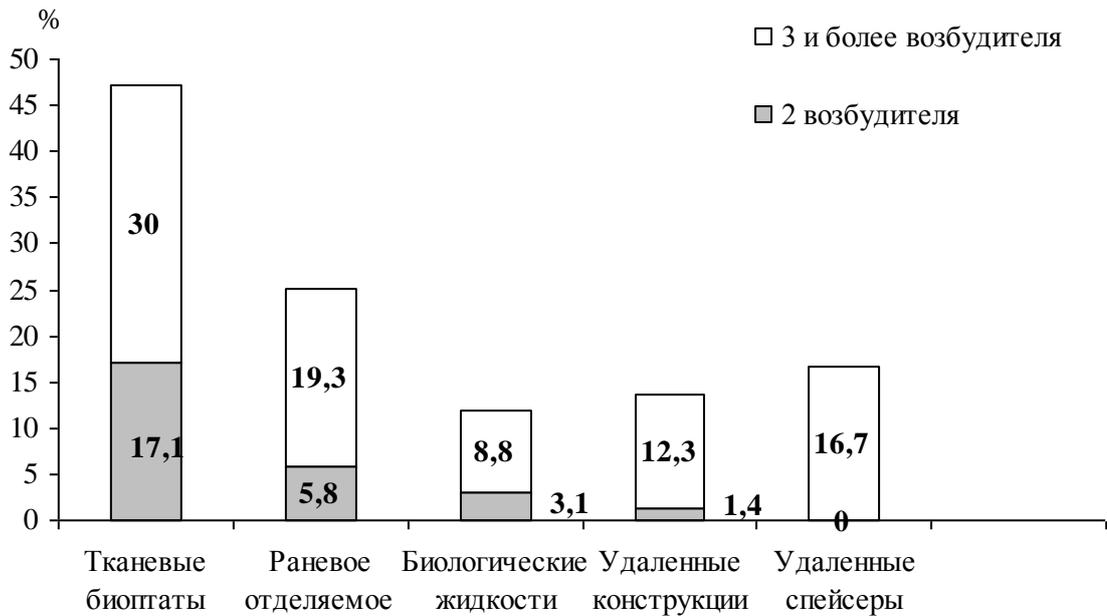


Рисунок 3.9. Частота выделения микробных ассоциаций из разных источников за период 2013–2014 гг.

Для проведения более подробного анализа качественного состава ассоциаций стафилококков с другими возбудителями, выделенных от пациентов с перипротезной инфекцией, все микробные ассоциации были разделены на группы:

- 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, в основном *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.

Дальнейшее исследование выявило (рис. 3.10), что в разные годы в значительной доле случаев от их общего количества (от 34,8 до 69,4%)

стафилококки выделяются вместе с грамотрицательными бактериями, как правило, с представителями семейства *Enterobacteriaceae* и в ряде случаев – родов *Acinetobacter* и *Pseudomonas*.

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

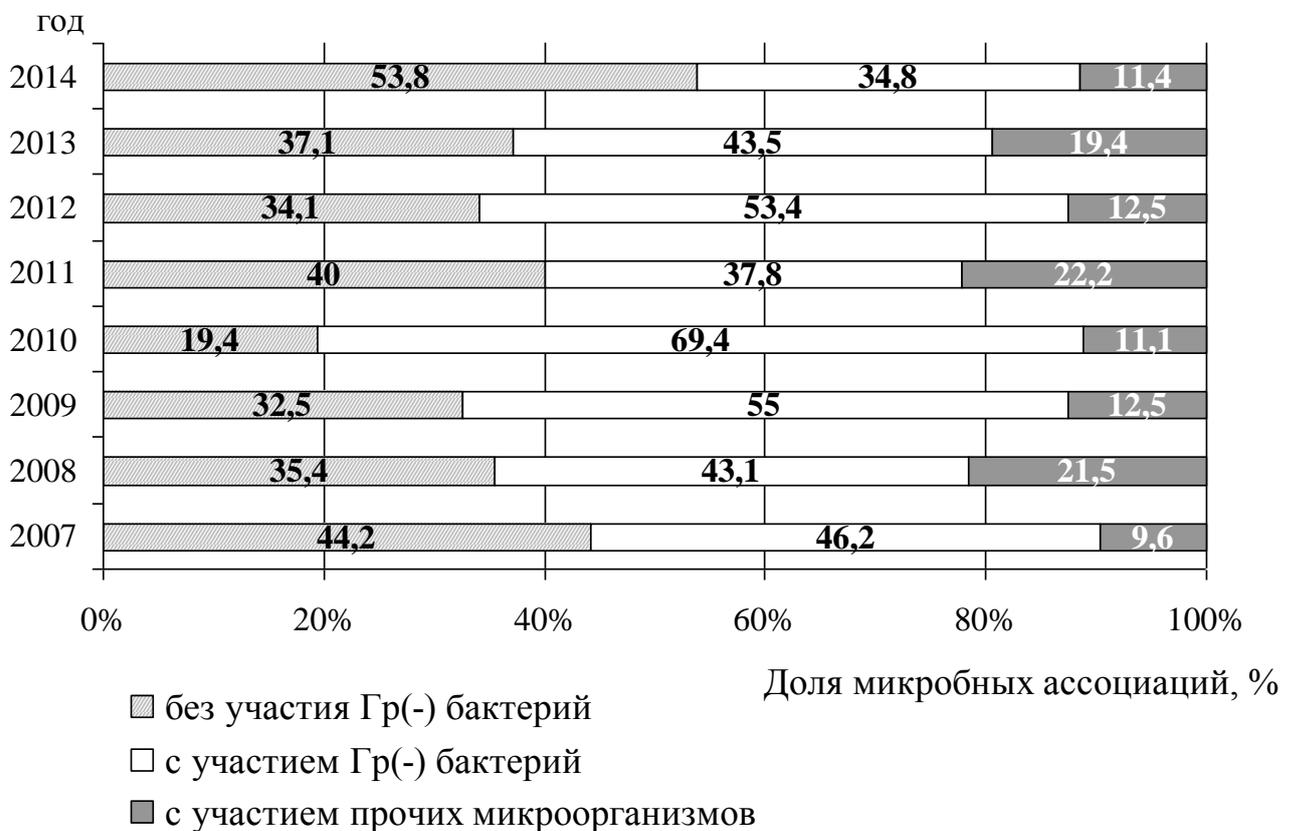


Рисунок 3.10. Динамика структуры ассоциаций штаммов *Staphylococcus* spp. с учетом наличия в составе грамотрицательных бактерий за 2007–2014 гг.

3.4. Спектр и антибиотикорезистентность энтерококков и грамотрицательных возбудителей

Как было установлено в разделе 3.3 в 27,7% случаев ППИ, обусловленной стафилококками, в ее этиологии принимают участие и грамотрицательные возбудители. Таким образом, необходим рациональный выбор антимикробных препаратов, особенно при назначении эмпирической терапии. В данном разделе приведены результаты исследования видового спектра энтерококков и грамотрицательных возбудителей, а также профиль их антибиотикорезистентности за 2007–2009 гг., которые будут учтены при разработке рекомендации по системной антибактериальной терапии ППИ.

Суммарная частота выделения штаммов *Enterococcus* spp. при перипротезной инфекции составила 10,9%, из них 59,1% – штаммы *E. faecalis*, 21,1% – *E. faecium*. В 71,4% случаев штаммы *E. faecalis* выделялись в составе микробных ассоциаций. Доля грамотрицательных микроорганизмов составила 16,4%. Как видно из таблицы 3.6 ведущее положение занимают неферментирующие бактерии, представленные штаммами *P. aeruginosa* и *A. calcoaceticus/baumannii complex*, доля которых составила в среднем 3,5 и 4,4%, соответственно. В результате проведенного исследования установлено, что энтеробактерии редко оказываются возбудителями хирургической инфекции после больших ортопедических операций. Среди всех представителей этой обширной группы патогенов в структуру ведущих возбудителей ортопедической ИАИ вошли *E. cloacae*, *K. pneumoniae* и *E. coli*. Доля представителей семейства энтеробактерий составила в среднем 6,6%, в т.ч. штаммы *E. cloacae* – 3,2%, *E. coli* – 1,7%, *K. pneumoniae* – 1,7%.

Видовой спектр Гр(-) микроорганизмов, выделенных от пациентов с ППИ

Вид микроорганизма	2007	2008	2009
<i>Неферментирующие бактерии</i>			
<i>A. calcoaceticus/baumannii complex</i>	3,2%	3,6%	3,7%
<i>P. auroginosa</i>	4,8%	2,9%	5,6%
<i>Enterobacteriaceae spp.</i>			
<i>E. cloacae</i>	3,8%	3,6%	2,2%
<i>E. coli</i>	1,0%	1,4%	2,6%
<i>K. pneumoniae</i>	0,6%	1,1%	3,4%
Всего кол-во штаммов (пациентов)	314 (229)	295 (200)	268 (189)
Доля всех Гр(-) бактерий,	16,6%	13,7%	19%

3.4.1. Антибактериальная резистентность *Enterococcus spp.*

Все выделенные штаммы энтерококков были чувствительны к ванкомицину, линезолиду, тигециклину. Только 26,5% штаммов были резистентны к ампициллину. Кроме того, высокую активность сохраняют ампициллин/сульбактам и имипенем/циластатин, при этом более 70% штаммов *E. faecalis* чувствительны к фторхинолонам, гентамицину (табл. 3.7). Однако перечисленные препараты оказывают в отношении энтерококков лишь бактериостатическое действие. Необходимость в назначении эффективных схем антибактериальной терапии, препаратами, оказывающими бактерицидное действие, в клинике травматологии и ортопедии возникает при развитии инфекции на фоне нейтропении или при невозможности удаления имплантата. Наиболее выраженный бактерицидный эффект можно получить при комбинированной терапии β-лактамами или ванкомицином в сочетании с гентамицином. Однако при назначении последней комбинации следует остерегаться крайне высокой нефротоксичности, что требует постоянного

мониторинга клиренса креатинина для контроля функции почек у пациента. Штаммы *E. faecium* отличались более высокой резистентностью к исследуемым антибактериальным препаратам за исключением ванкомицина (табл. 3.7).

Таблица 3.7

Суммарный* уровень антибиотикорезистентности штаммов *E. faecalis* и *E. faecium* за 2007–2009 гг.

Антибиотик	Резистентность, %	
	<i>E. faecalis</i> (n=36)	<i>E. faecium</i> (n=15)
Ампициллин	26,5	70
Амоксициллин/ сульбактам	10,3	60
Ванкомицин	0	0
Гентамицин	36,8	50
Ко-тримоксазол	34,6	66,2
Имипенем/циластатин	11,0	45,5
Меропенем	75,7	100
Ципрофлоксацин	33,0	45,5

* – анализ динамики антибиотикорезистентности по годам не проводили в связи с небольшим количеством выделенных штаммов.

3.4.2 Антибактериальная резистентность *P. aeruginosa*

Выделенные штаммы *P. aeruginosa* отличались высоким уровнем резистентности к амикацину, гентамицину, пиперациллину, цефалоспорином III–IV поколений, ципрофлоксацину, меропенему, азтреонаму (табл. 3.8). Наиболее активными в отношении *P. aeruginosa* являлись тобрамицин, ингибиторзащищенные бета-лактамы (пиперациллин/тазобактам и цефоперазон/сульбактам), колистин, имипенем. Высокую активность в отношении выделенных штаммов показал антисептик диоксидин, разрешенный для системного применения.

Антибактериальная резистентность изолятов *P.aeruginosa* (n=40), выделенных от пациентов с перипротезной инфекцией

Антибиотик	Резистентность, %
<i>Аминогликозиды</i>	
Тобрамицин	4,0
Амикацин	25,6
Гентамицин	39,5
<i>Антисинегнойные пенициллины</i>	
Пиперациллин/Тазобактам	6,7
Пиперациллин	21,1
<i>Карбапенемы</i>	
Имипенем	10,7
Меропенем	51,5
<i>Антисинегнойные цефалоспорины</i>	
Цефоперазон/сульбактам	12,5
Цефтазидим	17,5
Цефепим	22,5
Цефоперазон	24
<i>Другие</i>	
Ципрофлоксацин	47,5
Диоксидин	0,25
Колистин	6,2
Азтреонам	45,5

3.4.3 Антибактериальная резистентность *A. baumannii*

Выделенные штаммы *A. baumannii* отличались высоким уровнем резистентности к аминогликозидам, пиперациллину, цефалоспорином III–IV поколений, ципрофлоксацину (табл. 3.9). Наиболее активными в отношении *A. baumannii* являлись карбапенемы, колистин, диоксидин.

Антибактериальная резистентность изолятов *A. baumannii* (n=21), выделенных от пациентов с перипротезной инфекцией

Антибиотик	Резистентность, %
<i>Аминогликозиды</i>	
Амикацин	40,9
Тобрамицин	60
Гентамицин	66,7
<i>Антисинегнойные пенициллины</i>	
Пиперациллин/Тазобактам	50,0
Пиперациллин	75,0
<i>Карбапенемы</i>	
Меропенем	12,5
Имипенем	13,3
<i>Антисинегнойные цефалоспорины</i>	
Цефоперазон/сульбактам	33,3
Цефоперазон	69,2
Цефтазидим	73,6
Цефепим	85,7
<i>Другие</i>	
Ципрофлоксацин	57,1
Колистин	0
Диоксидин	4,7

3.4.4 Антибактериальная резистентность *Enterobacteriaceae* spp.

Анализ динамики антибиотикорезистентности грамотрицательных микроорганизмов не проводился в связи с небольшим количеством выделенных штаммов (от 13 до 40 изолятов каждого вида за 3 года).

Высокая резистентность изолятов *E. cloacae* отмечена к ампициллину, пиперациллину, доксициклину, цефазолину, цефтазидиму. АМП с ингибиторами

β -лактамаз показывают большую активность в отношении данного микроорганизма (табл. 3.10), однако, чувствительность выделенных штаммов к амоксициллину/клавуланату невысокая. Наибольшая активность выявлена у пиперациллина/тазобактама, цефоперазона/сульбактама, цефепима, цiproфлоксацина, карбапенемов, тобрамицина, диоксицина, и колистина, хорошая чувствительность сохраняется к цефалоспорином 3 поколения. Выделенные изоляты *E.coli* обладают наибольшей резистентностью к пенициллинам, амоксициллину/клавуланату, цефалоспорином, гентамицину, цiproфлоксацину, доксициклину, тетрациклину и ко-тримоксазолу. Максимально активны в отношении *E. coli* были цефоперазон/сульбактам, карбапенемы, амикацин, тобрамицин, диоксидин и колистин, к которым были чувствительны все штаммы данного микроорганизма. Большинство штаммов *E. coli* было чувствительно к нетилмицину. Выделенные изоляты *K. pneumoniae* обладают наибольшей среди представленных видов энтеробактерий резистентностью к АМП (табл. 3.10). Наибольшую активность против штаммов *K. pneumoniae* сохраняют пиперациллин/тазобактам, карбапенемы, диоксидин и колистин.

Таблица 3.10

Антимикробная резистентность изолятов энтеробактерий, выделенных от пациентов с перипротезной инфекцией, %

Антимикробный препарат	<i>Enterobacter cloacae</i> (n=22)	<i>Escherichia coli</i> (n=14)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=13)
<i>Цефалоспорины и ингибиторзащищенный цефалоспорин</i>			
Цефотаксим	12,5	41,7	66,7
Цефтриаксон	13,3	42,8	75
Цефтазидим	26,1	28,6	53,3
Цефоперазон	18,2	66,7	100
Цефоперазон/сульбактам	0	0	50
Цефепим	0	28,6	40
<i>Карбапенемы</i>			
Имипенем	0	0	0
Меропенем	0	0	0

Продолжение таблицы 3.10

<i>Пенициллины и ингибиторзацинненые пенициллины</i>			
Ампициллин	84,2	66,7	100
Амоксициллин/клавулановая кислота	38,4	46,6	50
Пиперациллин	50	57,1	80
Пиперациллин/тазобактам	0	0	18,2
<i>Аминогликозиды</i>			
Гентамицин	27,3	38,5	85,7
Нетилмицин	13,3	13,3	72,7
Амикацин	9	0	57,1
Тобрамицин	0	0	0
<i>Другие</i>			
Ципрофлоксацин	4,3	57,1	64,3
Диоксидин	0	0	0
Доксициклин	33,3	28,6	25
Ко-тримоксазол	16,7	35,2	85,7
Колистин	0	0	0
Тетрациклин	0	50	12,5

3.5. Влияние микробных ассоциаций на результаты санирующей операции с удалением эндопротеза и установкой спейсера

Изучены истории болезни 224 пациентов, которым выполнены санирующие операции с удалением эндопротеза и установкой цементного спейсера в разные сроки после первичного (60,2%) или ревизионного (29,8%) эндопротезирования тазобедренного (79,9%) или коленного сустава (20,1%). Частота рецидива инфекции в течение года после санации в ретроспективной выборке составила 31,2%. В зависимости от этиологии ППИ все пациенты были разделены на группы:

– монобактериальной ППИ (МБ-ППИ) – пациенты с перипротезной инфекцией, обусловленной только одним возбудителем – представителем *Staphylococcus spp.*;

– полибактериальной ППИ (ПБ-ППИ) – пациенты с перипротезной инфекцией, обусловленной двумя и более возбудителями, один из которых – представитель *Staphylococcus* spp.

Исследуемые группы существенно не различались по полу, возрасту, причине эндопротезирования, сопутствующей патологии, локальным признакам инфекционного процесса и его продолжительности (табл. 3.11), однако уровень СРБ в группе ПБ-ППИ был значимо выше ($p=0,019$). Кроме того, при полибактериальной инфекции, в сравнении с группой МБ-ППИ, в составе микробных ассоциаций значимо чаще встречались штаммы MRSA ($p<0,05$) и представители *S. epidermidis* ($p<0,01$), при этом частота выделения MRSE была также выше в группе ПБ-ППИ: 15,7 vs 8,9 ($p>0,05$).

Не установлено различий между группами сравнения по времени выполнения операции, интраоперационной и дренажной кровопотери, количестве и сроках удаления дренажей. В течение года наблюдения купирование инфекции отмечено у 78,8 и 47,1% больных в группах моно- и полибактериальной ППИ, соответственно ($p<0,01$). Таким образом, относительный риск рецидива при ППИ (ОР), обусловленной микробной ассоциацией с участием *Staphylococcus* spp. составил 2,52 (ДИ 95% 1,178–3,787).

Таблица 3.11

Характеристика пациентов исследуемых групп

Показатель	МБ-ППИ N=151	ПБ-ППИ N=73	p
Женщины, %	66,5	60,0	$>0,05$
Возраст, лет, Mср (ДИ 95%)	55,3 (52,8–57,8)	55,8 (52,5–59,2)	$>0,05$
ППИ области ТБС, %	78,8	82,2	$>0,05$
ППИ после первичного ЭП, %	58,1	61,4	$>0,05$
Время существования ППИ, мес., Mср (ДИ 95%)	7,8 (6,1–9,7)	13,0 (8,1–17,9)	$>0,05$

Продолжение таблицы 3.11

<i>Причина эндопротезирования и сопутствующая патология</i>			
Остеоартроз, %	67,5	73,7	>0,05
Ревматоидный артрит, %	10,8	5,3	>0,05
Перелом ШБК, %	13,3	7,9	>0,05
АНГБК, %	25,3	18,4	>0,05
ИМТ, кг/м ² , Мср (ДИ 95%)	26,4 (25,7–27,1)	27,5 (26,1–28,9)	>0,05
Патология ССС	70,2	67,1	>0,05
СД	15,3	12,9	>0,05
ХОБЛ	15,3	17,1	>0,05
Анемия	23,4	27,1	>0,05
Гепатит	12,1	8,6	>0,05
<i>Локальные признаки инфекции при поступлении</i>			
Боль	18,1	10,5	>0,05
Боль и свищ	81,9	89,5	>0,05
Гиперемия	74,7	71,1	>0,05
<i>Системные признаки инфекции при поступлении</i>			
Лейкоциты, 10 ⁹ /л, Мср (ДИ 95%)	8,3 (7,7–8,9)	7,8 (7,1–8,5)	>0,05
СОЭ мм/ч, Мср (ДИ 95%)	36,6 (32,5–40,8)	40,6 (34,1–47,2)	>0,05
СРБ мг/л, Мср (ДИ 95%)	21,3 (13,8–28,7)	28,7 (19,7–37,7)	0,019
<i>Другие параметры</i>			
Время операции, мин, Мср (ДИ 95%)	189,4 (180,1–198,7)	195,4 (185,4–205,3)	>0,05
Кровопотеря интраоперационная, мл, Мср (ДИ 95%)	948,8 (862,3–1035,3)	952,9 (837,5–1068,4)	>0,05
Сутки удаления дренажей п/о, Мср (ДИ 95%)	6,1 (5,7–6,5)	5,7 (5,3–6,2)	>0,05
<i>S. aureus</i> , %	74,2	74,3	>0,05
<i>S. epidermidis</i> , %	22,6	47,1	<0,01
MRSA, %	4,0	12,9	<0,05
MRSE, %	8,9	15,7	>0,05
Купирование ППИ, %	78,8	47,1	<0,01

Несмотря на то, что исследуемые группы значимо не различались по структуре операций, предшествующих развитию ППИ (табл. 3.11), для полного исключения влияния данного фактора выполнен анализ зависимости эффективности купирования инфекции 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 ППИ.

Группы пациентов с моно- и полибактериальной ППИ после первичного эндопротезирования существенно не различались по полу, возрасту, сопутствующей патологии, длительности течения инфекционного процесса (табл. 3.12). В группе монобактериальной инфекции количество лейкоцитов при поступлении было больше, чем в группе сравнения ($p < 0,05$), однако, в обеих группах этот показатель не превышал верхней границы нормы. Кроме того, гиперемия области инфицированного эндопротеза также наблюдалась значимо чаще в группе монобактериальной инфекции ($p < 0,05$). При полибактериальной инфекции, в сравнении с группой МБ-ППИ, в составе микробных ассоциаций значимо чаще встречались штаммы *S. epidermidis* ($p < 0,01$), при этом доля MRSE была также выше: 16,3 vs 2,8 ($p < 0,01$). Не установлено различий между группами по времени выполнения операции, интраоперационной и дренажной кровопотере, количеству и срокам удаления дренажей. В течение года наблюдения купирование инфекции отмечено у 72,2 и 32,6% больных в группах моно- и полибактериальной ППИ, соответственно ($p < 0,01$). Таким образом, участие микробных ассоциаций в этиологии ППИ у пациентов после первичного эндопротезирования увеличивает риск развития рецидива после установки цементного спейсера более чем в 3 раза, чем при монобактериальной стафилококковой инфекции (ОР=3,1; ДИ 95% 1,998–4,816).

Характеристика пациентов с ППИ после первичного эндопротезирования тазобедренного или коленного сустава в зависимости от участия микробных ассоциаций в этиологии инфекции

Показатели	МБ-ППИ-1 n=82	ПБ-ППИ-1 n=51	p
Женщин, %	65,6	65,8	>0,05
Возраст, лет, Мср (ДИ 95%)	56,0 (53,1–58,9)	56,5 (52,2–60,7)	>0,05
Время существования ППИ, мес., Мср (ДИ 95%)	7,3 (4,2–10,4)	13,0 (5,9–13,3)	>0,05
ИМТ, кг/м ² , Мср (ДИ 95%)	26,9 (24,5–26,6)	26,9 (25,3–28,6)	>0,05
Патология ССС	75,0	65,1	>0,05
СД	22,2	16,3	>0,05
ХОБЛ	12,5	16,3	>0,05
Анемия	16,7	18,6	>0,05
<i>Локальные признаки инфекции при поступлении</i>			
Боль	8,5	12,5	>0,05
Боль и свищ	89,8	84,4	>0,05
Гиперемия	88,1	68,8	<0,05
<i>Системные признаки инфекции при поступлении</i>			
Лейкоциты 10 ⁹ /л, Мср (ДИ 95%)	8,9 (8,0–9,8)	7,5 (6,7–8,3)	<0,05
СОЭ мм/ч, Мср (ДИ 95%)	36,5 (31,4–41,5)	34,1 (27,0–41,1)	>0,05
СРБ мг/л, Мср (ДИ 95%)	22,8 (11,9–33,8)	21,0 (13,8–28,2)	>0,05
<i>Другие параметры</i>			
Время операции, мин, Мср (ДИ 95%)	191,0 (179,1–202,9)	195,7 (184,5–206,9)	>0,05
Кровопотеря интраоперационная, мл, Мср (ДИ 95%)	963,5 (851,7–1075,3)	1010,2 (854,5–1165,7)	>0,05
Сутки удаления дренажей п/о, Мср (ДИ 95%)	6,2 (5,8–6,6)	5,8 (5,3–6,3)	>0,05
<i>S.aureus</i> , %	79,2	62,8	>0,05
<i>S.epidermidis</i> , %	15,3	37,2	<0,01
MRSA, %	1,4	7,0	>0,05
MRSE, %	2,8	16,3	<0,01
Купирование ППИ, %	72,2	32,6	<0,01

Группы пациентов с моно- и полибактериальной ППИ после ревизионного эндопротезирования существенно не различались по полу и возрасту (табл. 3.13), локальным признакам инфекционного процесса. При этом установлено, что среднее значение ИМТ было значимо выше в группе ПБ-ППИ-2 в сравнении с МБ-ППИ-2 ($p=0,014$). Длительность существования инфекционного процесса в группах сравнения была сопоставимой, при этом системные признаки инфекционного процесса (СРБ и СОЭ) при поступлении также более выраженными у пациентов с полибактериальной этиологией ($p<0,05$). Не установлено существенных различий в видовой структуре стафилококков, времени выполнения операции, интраоперационной и дренажной кровопотери, количестве и сроках удаления дренажей между группами моно- и полибактериальной ППИ после ревизионного эндопротезирования. В течение года наблюдения купирование инфекции отмечено у 88,5 и 70,4% больных в группах моно- и полибактериальной ППИ, соответственно ($p<0,01$).

Таким образом, участие микробных ассоциаций в этиологии ППИ у пациентов после ревизионного эндопротезирования увеличивает риск развития рецидива после установки цементного спейсера более чем в 2,5 раза в сравнении с монобактериальной стафилококковой инфекцией (ОР=2,6; ДИ 95% 0,992–6,646).

Таблица 3.13

Характеристика пациентов с ППИ после ревизионного эндопротезирования тазобедренного или коленного сустава в зависимости от участия микробных ассоциаций в этиологии инфекции

Показатель	МБ-ППИ-2 n=61	ПБ-ППИ-2 N=30	Р
Женщин, %	67,7	72,7	>0,05
Возраст, лет, Мср (ДИ 95%)	54,2 (49,6–58,7)	54,6 (48,8–60,5)	>0,05
Время существования ППИ, мес., Мср (ДИ 95%)	8,2 (5,8–10,6)	9,6 (5,9–13,3)	>0,05
ИМТ, кг/м ² , Мср (ДИ 95%)	25,5 (24,5–26,6)	28,5 (26,1–28,9)	0,014

Продолжение таблицы 3.13

Патология ССС	63,5	70,4	>0,05
СД	5,8	7,4	>0,05
ХОБЛ	19,2	18,5	>0,05
Анемия	32,7	40,7	>0,05
Гепатит	11,5	14,8	>0,05
<i>Локальные признаки инфекции при поступлении</i>			
Боль	41,7	0	>0,05
Боль и свищ	58,3	100	>0,05
Гиперемия	83,3	83,3	>0,05
<i>Системные признаки инфекции при поступлении</i>			
Лейкоциты 10 ⁹ /л, Мср (ДИ 95%)	7,5 (6,7–8,2)	8,2 (6,8–9,7)	>0,05
СОЭ мм/ч, Мср (ДИ 95%)	36,9 (29,5–44,3)	51,8 (39,3–64,4)	0,029
СРБ мг/л, Мср (ДИ 95%)	18,9 (9,9–28,2)	41,8 (20,8–62,9)	0,021
<i>Другие параметры</i>			
Время операции, мин, Мср (ДИ 95%)	187,0 (171,5–202,5)	194,8 (174,5–215,1)	>0,05
Кровопотеря интраоперационная, мл, Мср (ДИ 95%)	927,0 (785,9–1068,1)	847,9 (681,2–1014,6)	>0,05
Сутки удаления дренажей п/о, Мср (ДИ 95%)	5,9 (5,7–6,5)	5,6 (4,8–6,3)	>0,05
<i>S.aureus</i> , %	57,7	59,3	>0,05
<i>S.epidermidis</i> , %	11,5	22,2	>0,05
MRSA, %	7,7	22,2	>0,05
MRSE, %	17,3	14,8	>0,05
Купирование ППИ, %	88,5	70,4	<0,01

Проведенный этап исследования показал, что участие микробных ассоциаций в этиологии ППИ значительно ухудшает прогноз эффективности двухэтапного метода лечения, в независимости от операции, предшествующей развитию ППИ. Следовательно, для составления рекомендаций по рациональной антибактериальной терапии, необходимо учитывать не только данные локального мониторинга антибиотикочувствительности стафилококков, несмотря на их преобладание в спектре ведущих возбудителей ППИ, но и характер резистентности других возбудителей, входящих в состав микробных ассоциаций.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СТАФИЛОКОККОВЫХ МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК

В главе 4 рассматриваются результаты изучения способности к биопленкообразованию представителей *Staphylococcus* spp. – возбудителей ППИ, и эффективности антибиотиков и их комбинаций в отношении планктонных и сессильных форм MRSA в экспериментах *in vitro*.

4.1. Результаты оценки способности к биопленкообразованию у клинических штаммов *Staphylococcus* spp.

Исследована способность к биопленкообразованию (БПО) у 394 штаммов стафилококков (241 – *S. aureus* и 153 – *S. epidermidis*), выделенных из тканевых биоптатов, аспиратов и удаленных конструкций 321 пациента, которые проходили лечение в клинике РНИИТО им Р.Р. Вредена в 2012 гг. по поводу имплантат-ассоциированной инфекции после предшествующих ортопедических операций (табл. 4.1). При этом у подавляющего большинства пациентов (85,4%), вошедших в данное исследование, глубокая ИОХВ развилась после эндопротезирования тазобедренного или коленного сустава.

Таблица 4.1

Вид хирургического вмешательства, предшествующего развитию инфекции

Хирургическое вмешательство	Количество пациентов, n=321
Эндопротезирование тазобедренного сустава	184
Эндопротезирование коленного сустава	90
Остеосинтез костей голени	14
Эндопротезирование плечевого сустава	10
Спондилосинтез	10
Эндопротезирование локтевого сустава	9
Эндопротезирование голеностопного сустава	4

4.1.1. Эпидемиологическая характеристика выборки штаммов

Исследуемые штаммы стафилококков были выделены из различных источников: 77,2% изолятов – из биологических материалов: биоптатов (n=144) и аспиратов (n=160), 22,8% штаммов (n=90) – с удаленных ортопедических конструкций (компонентов эндопротезов, других металлоконструкций, спейсеров). У половины всех исследуемых штаммов стафилококков выявлена устойчивость к метициллину. При этом из биологических материалов метициллинорезистентные штаммы выделяли значительно чаще ($p < 0,01$), чем с ортопедических конструкций (53 vs 35,6%). Среди *S. aureus* метициллинорезистентные (MRSA) штаммы составили 30,7%, среди *S. epidermidis* (MRSE) – 77,8%. Установлено (рис. 4.1), что с ортопедических конструкций в сравнении с биологическими материалами значительно чаще ($p < 0,01$) выделяли MSSA и существенно реже ($p < 0,01$) – MRSE (18,9 vs 33,6%).

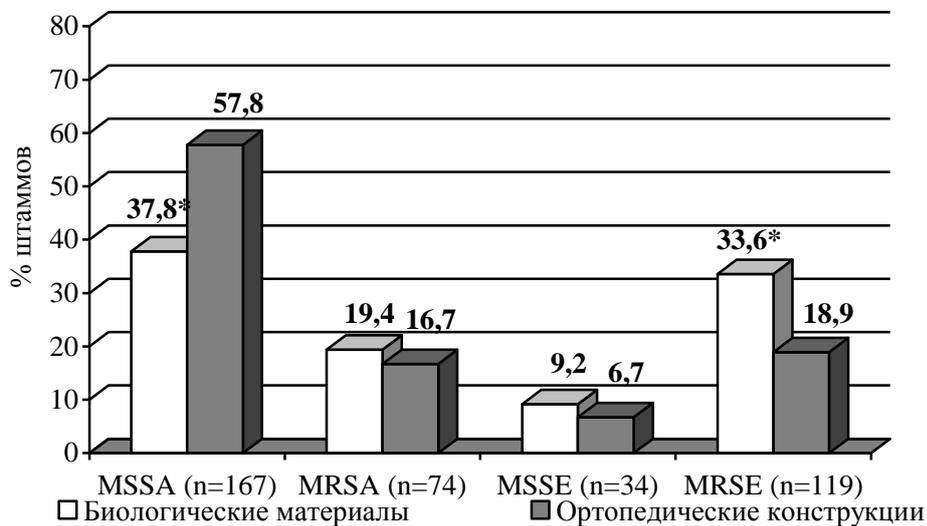


Рисунок 4.1. Сравнительное распределение *S. aureus* и *S. epidermidis* по источнику выделения и чувствительности к метициллину

* – $p < 0,01$ по сравнению с ортопедическими конструкциями

4.1.2. Результаты скрининга способности биопленкообразования клинических штаммов *Staphylococcus* spp.

Выраженной способностью к формированию биопленок обладали 40,9% исследованных штаммов. Среди штаммов, выделенных из биоптатов и с удаленных ортопедических конструкций, в сравнении с изолятами из аспиратов в 1,5 раза чаще ($p < 0,01$) встречались сильные биопленкообразователи (табл. 4.2). Анализ межвидовых различий по способности к биопленкообразованию, в зависимости от источника выделения возбудителей, показал (рис. 4.2, А и Б), что среди изолятов с удаленных ортопедических конструкций штаммы *S. epidermidis* несколько чаще, чем *S. aureus* (60,9 vs. 43,3%) демонстрировали БПО-1. Установлено также, что штаммы обоих видов стафилококков, выделенные из аспиратов, в подавляющем большинстве случаев характеризовались слабой способностью к формированию биопленки, в отличие от изолятов из тканевых биоптатов ($p < 0,05$) и с ортопедических конструкций ($p < 0,05$) (рис. 4.2 А и Б).

Таблица 4.2

Распределение штаммов *Staphylococcus* spp. (n=394) из различных источников по степени БПО

Степень БПО	Ортопедические конструкции	Тканевые биоптаты	Аспираты	Всего
	Количество штаммов % (n)			
БПО-0	52,2 (47)	52,8 (76)	68,8 (110)	59,1 (233)
БПО-1	47,8* (43)	47,2* (68)	31,3 (50)	40,9 (161)
Итого	100 (90)	100 (144)	100 (160)	100 (394)

* – ($p < 0,01$) по сравнению с долей сильных биопленкообразователей, выделенных из аспиратов

БПО-0 – слабая способность к биопленкообразованию – слабые биопленкообразователи

БПО-1 – выраженная способность к биопленкообразованию – сильные биопленкообразователи

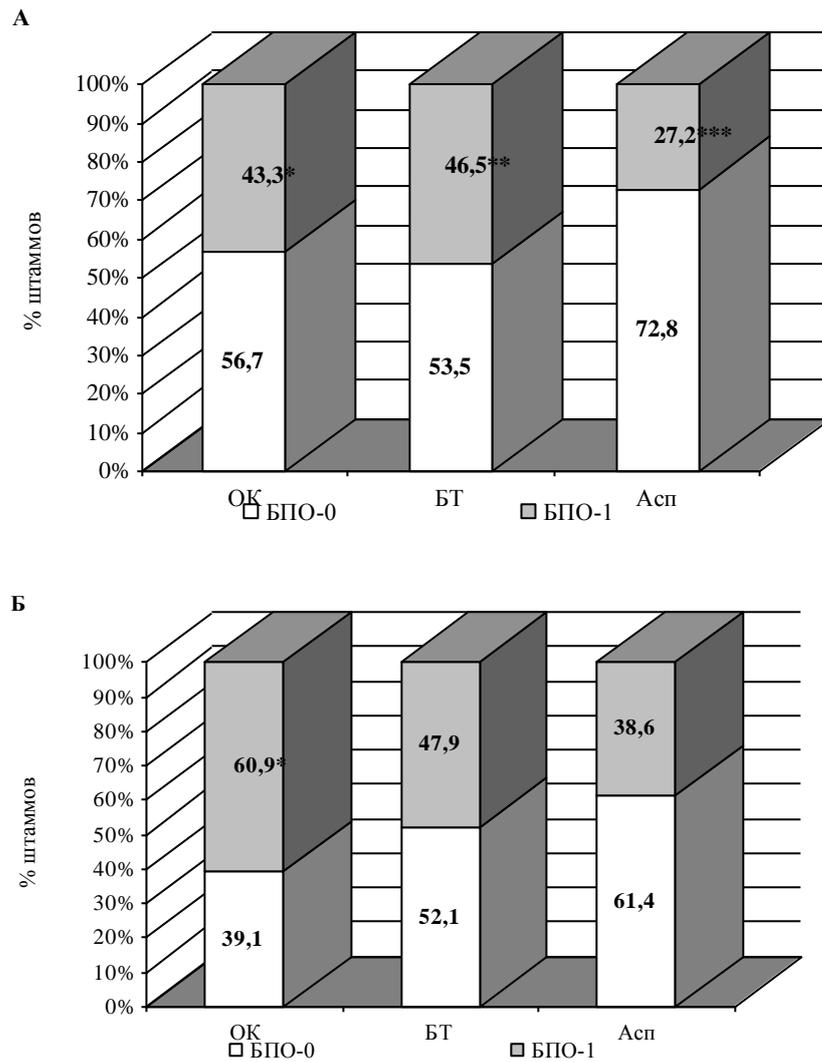


Рисунок 4.2. Распределение (%) по способности к биопленкообразованию (БПО)

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, выделенных из аспиратов

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

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

В целом, штаммы *S. aureus* (рис. 4.3) существенно реже ($p < 0,01$) демонстрировали БПО-1 (37,3%), при этом сильные биопленкообразователи несколько чаще встречались среди MSSA, чем MRSA (40,1 vs 31,1%). В то же

время, выраженная способность к формированию биопленки вне зависимости от чувствительности к метициллину установлена у 46,4% изолятов *S. epidermidis*. Межвидовой анализ показал, что сильных биопленкообразователей среди штаммов MRSE было достоверно больше ($p < 0,05$) по сравнению с MRSA (47,9 vs 31,1%).

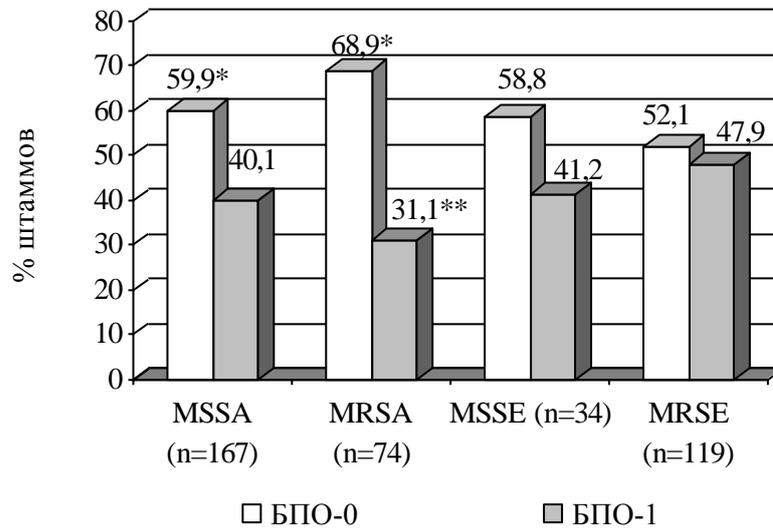


Рисунок 4.3. Распределение штаммов *Staphylococcus* spp. (n=394) по способности к биопленкообразованию (БПО) в зависимости от вида и чувствительности к метициллину, %

* – ($p < 0,01$) в сравнении с долей БПО-0 в той же группе

** – ($p < 0,05$) в сравнении с долей БПО-1 в группе MRSE

Кроме того, установлено, что вне зависимости от вида и метициллинорезистентности штаммы стафилококков, выделенные от пациентов, у которых в анамнезе 2 и более saniрующих операции, существенно чаще демонстрировали БПО1 в сравнении с пациентами, у которых было не более 1 санации: 28,6 и 3,8%, соответственно ($p < 0,05$).

4.2. Результаты исследования воздействия сывороточных концентраций антибиотиков на формирование биопленок у клинических штаммов MRSA, возбудителей инфекции протезированных суставов

На данном этапе исследования изучали эффективность антибиотиков, которые согласно результатам, представленным ранее в главе 3, продемонстрировали различную степень активности в отношении метициллинорезистентных стафилококков: ванкомицин, линезолид, рифампицин, фосфомицин, моксифлоксацин, ко-тримоксазол, гентамицин (табл.4.3). Кроме того, в исследование был включен новый зарегистрированный в Российской Федерации антибиотик - даптомицин, характеризующийся высокой активностью в отношении стафилококков, включая метициллинорезистентные штаммы. В исследование взяты концентрации препаратов, аналогичные концентрациям, создаваемым в сыворотке крови при парентеральном введении указанных лекарств.

Таблица 4.3

Характеристика клинических штаммов MRSA, включенных в исследование

№ п/п	Штаммы	Локус выделения штамма	МИК ванкомицина	Степень БПО	ОП экстракта
1.	<i>S. aureus</i> 335	ОК	1,5	I	0,644
2.	<i>S. aureus</i> 351	БТ	1,5	I	0,274
3.	<i>S. aureus</i> 666	РО	1	0	0,093
4.	<i>S. aureus</i> 826	ОК	1	I	0,214
5.	<i>S. aureus</i> 848	БТ	1	I	0,294
6.	<i>S. aureus</i> 858	БТ	1	0	0,084
7.	<i>S. aureus</i> 892	БТ	2	0	0,16
8.	<i>S. aureus</i> 1110	РО	1,5	0	0,136
9.	<i>S. aureus</i> 1576	РО	2	0	0,177
10.	<i>S. aureus</i> 1792	ОК	2	I	0,35

Продолжение таблицы 4.5.

11.	<i>S. aureus</i> 1797	БТ	2	0	0,071
12.	<i>S. aureus</i> 3555	БТ	0,5	I	0,515
13.	<i>S. aureus</i> 3559	ОК	1	I	0,477
14.	<i>S. aureus</i> 3928	РО	1	0	0,043
15.	<i>S. aureus</i> 5112	ОК	2	I	0,295
16.	<i>S. aureus</i> 5113	БТ	2	I	0,244
17.	<i>S. aureus</i> 5351	ОК	1,5	0	0,164
18.	<i>S. aureus</i> 5555	ОК	2	I	0,518
19.	<i>S. aureus</i> 5559	БТ	2	I	0,272
20.	<i>S. aureus</i> 5856	ОК	1,5	0	0,078
21.	<i>S. aureus</i> 6579	КР	1,5	0	0,077
22.	<i>S. aureus</i> 9207	ОК	1	I	0,415
23.	<i>S. aureus</i> 9224	БТ	1	I	0,503
24.	<i>S. aureus</i> 9627	ОК	1,5	I	0,468
25.	<i>S. aureus</i> 9629	БТ	1,5	I	0,761

ОП – оптическая плотность

БТ – биоптат

КР – кровь,

ОК – удаленная ортопедическая конструкция

РО – раневое отделяемое,

В анализ также включали среднюю эффективность антибиотика в отношении всех изолятов и среднюю положительную (+) эффективность антибиотика в отношении изолятов, которые затормозили формирование или рост биопленки. Кроме того, анализировали долю изолятов, в отношении которых проявился положительный (+) эффект антибиотиков (чувствительные штаммы).

В таблице 4.4 представлены сводные данные об уровне оптической плотности (ОП) экстракта красителя, по которому судили об отрицательной или положительной эффективности сывороточных концентраций исследуемых

антибиотиков на штаммы MRSA. Обращают на себя внимание, существенные различия в уровне ОП ($p < 0,01$) для планктонных и сессильных форм стафилококков при действии ванкомицина, даптомицина, линезолида, фосфомицина, т.е. тех препаратов, которые обладают наибольшей активностью в отношении метициллинорезистентных штаммов стафилококков. При этом указанные различия обусловлены значительным снижением ОП при совместном культивировании указанных антибиотиков и планктонных форм бактерий.

Таблица 4.4

Результаты измерения оптической плотности (ОП) после воздействия антибиотиками на планктонные формы и зрелую биопленку

Антибиотик	Доза, мкг/мл	Планктонная форма			Зрелая биопленка			p*
		ОП ср	min	max	ОП ср	min	max	
Ванкомицин	20	0,32	0,17	0,56	0,46	0,24	1,66	0,001
Даптомицин	60	0,32	0,13	0,54	0,58	0,26	1,74	0,00002
Линезолид	15	0,37	0,19	0,69	0,64	0,25	1,42	0,001
Рифампицин	4	0,35	0,14	1,04	0,44	0,21	1,02	0,093
Фосфомицин	25	0,32	0,12	0,76	0,52	0,19	1,86	0,0008
Моксифлоксацин	4,5	0,55	0,18	1,46	0,44	0,15	1,35	0,059
Ко-тримаксозол	9	0,65	0,1	1,74	0,5	0,19	0,2	0,1
Гентамицин	16	0,39	0,12	0,97	0,36	0,8	1,3	0,31

Здесь и в таблицах 4.5 и 4.6: * – анализ с использованием Т-критерия Стьюдента

Значения ОП, полученные после воздействия антибиотиков являются опосредованной характеристикой плотности сформированной биопленки и позволяют провести сравнение активности тестируемых препаратов. Установлено, что наибольшей активностью в отношении планктонных форм стафилококков обладали даптомицин, ванкомицин, линезолид и фосфомицин (табл. 4.5). Наименее эффективны в данной модели были ко-тримоксазол и моксифлоксацин. При воздействии на сформированную биопленку наименьшие значения $M_{ср}$ ОП были установлены для гентамицина, моксифлоксацина,

рифампицина и ванкомицина (табл. 4.6), наибольшие – для линезолида, ко-тримоксазола и даптомицина.

Таблица 4.5

Достоверность различий (p) между значениями ОП при действии различных антибиотиков на планктонные формы MRSA.

	ванко	дапто	линез	риф	фосфо	мокси	ко-три
дапто	0,3940						
линез	0,0083	0,0035					
риф	0,1517	0,1132	0,2484				
фосфо	0,3713	0,4092	0,0206	0,1126			
мокси	0,0004	0,0003	0,0035	0,0022	0,0004		
ко-три	0,00005	0,00002	0,0001	0,0001	0,000001	0,048	
гента	0,0357	0,0175	0,2457	0,1131	0,1131	0,02	0,0007

Здесь и далее: дапто – даптомицин, линез – линезолид, риф – рифампицин, фосфо – фосфомицин, мокси – моксифлоксацин, ко-три – ко-тримоксазол, гента – гентамицин.

Таблица 4.6

Достоверность различий (p) между значениями ОП при действии различных антибиотиков на сессильные формы MRSA

	ванко	дапто	линез	риф	фосфо	мокси	ко-три
дапто	0,0048						
линез	0,0192	0,2176					
риф	0,1939	0,0128	0,0084				
фосфо	0,0668	0,0636	0,0685	0,0652			
мокси	0,1353	0,0001	0,0007	0,4588	0,0239		
ко-три	0,3556	0,1281	0,1281	0,1649	0,3754	0,1662	
гента	0,0084	0,0001	0,0001	0,1249	0,0022	0,0593	0,0406

4.2.1. Эффективность ванкомицина в отношении планктонных и sessильных форм стафилококков

Однократное внесение ванкомицина в инкубационную среду было менее эффективно в отношении микробных биопленок в сравнении с действием на планктонные формы: 11 изолятов (44%) продолжили формирование биопленки после внесения антибиотика (рис. 4.4).

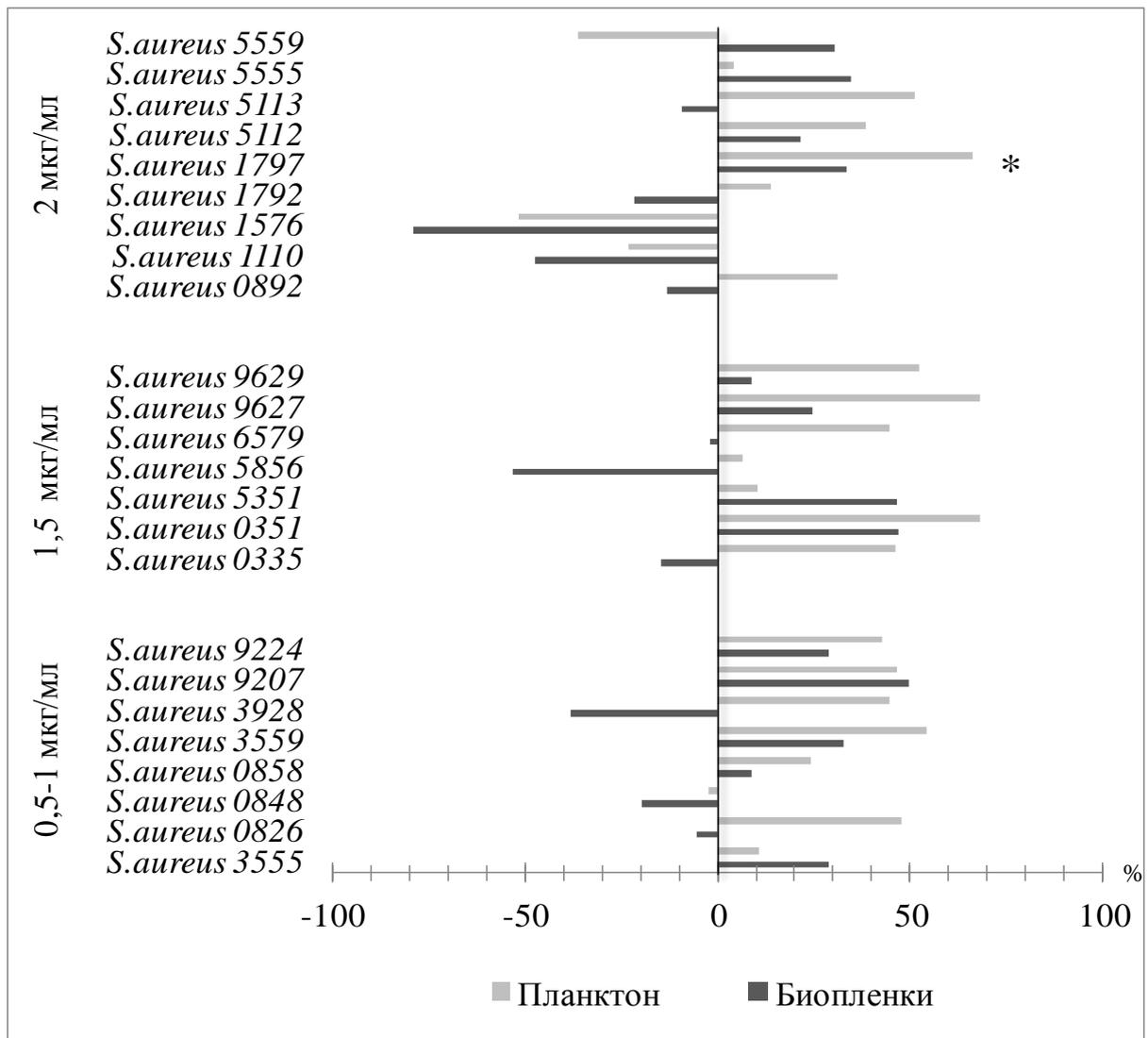


Рисунок 4.4 Эффективность ванкомицина в отношении планктонных форм стафилококков и в составе биопленок, %

* – $p < 0,01$, при сравнении доли чувствительных штаммов с МИК=2 и с МИК \leq 1,5 мкг/мл.

Кроме того, в 5 случаях (20%) ванкомицин был неэффективен и в отношении планктонных форм. В целом, среди тестируемых изолятов устойчивость к ванкомицину планктонной и сессильной форм установлена у трех штаммов (12%), в 12 случаях (48%) антибиотик был активен в отношении обеих форм изолятов, в 9 (36%) – положительная эффективность была выявлена только в отношении планктонной формы стафилококков.

Анализ эффективности ванкомицина в зависимости от его МИК в отношении исследуемых изолятов выявил тенденцию к снижению активности антибиотика в отношении планктонных форм штаммов с МИК = 2 мкг/мл в сравнении с изолятами с МИК $\leq 1,5$ мкг/мл, так подавление роста биопленки выявлено для 66,7% (6 из 9) и 87,5 (14 из 16) штаммов, соответственно. Аналогичная зависимость установлена и в отношении зрелых биопленок ($p < 0,01$): торможение роста биопленки установлено для 62,5% (10 из 16) штаммов с МИК ванкомицина $\leq 1,5$ мкг/мл и для 44,4% (4 из 9) – с МИК=2 мкг/мл.

4.2.3. Эффективность линезолида в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков

Как видно на рисунке 4.6 однократное внесение линезолида в инкубационную среду было менее эффективно в отношении микробных биопленок в сравнении с действием на планктонные формы: 16 изолятов (64%) продолжили формирование биопленки после внесения антибиотика. Кроме того, в 7 случаях (28%) линезолид был неэффективен в отношении планктонных форм. В целом, среди тестируемых изолятов устойчивость к линезолиду планктонной и сессильной форм установлена у 5 штаммов (20%), в 7 случаях (28%) антибиотик был активен в отношении обеих форм изолятов, в 13 (52%) – положительная эффективность была выявлена только в отношении планктонной формы стафилококков.

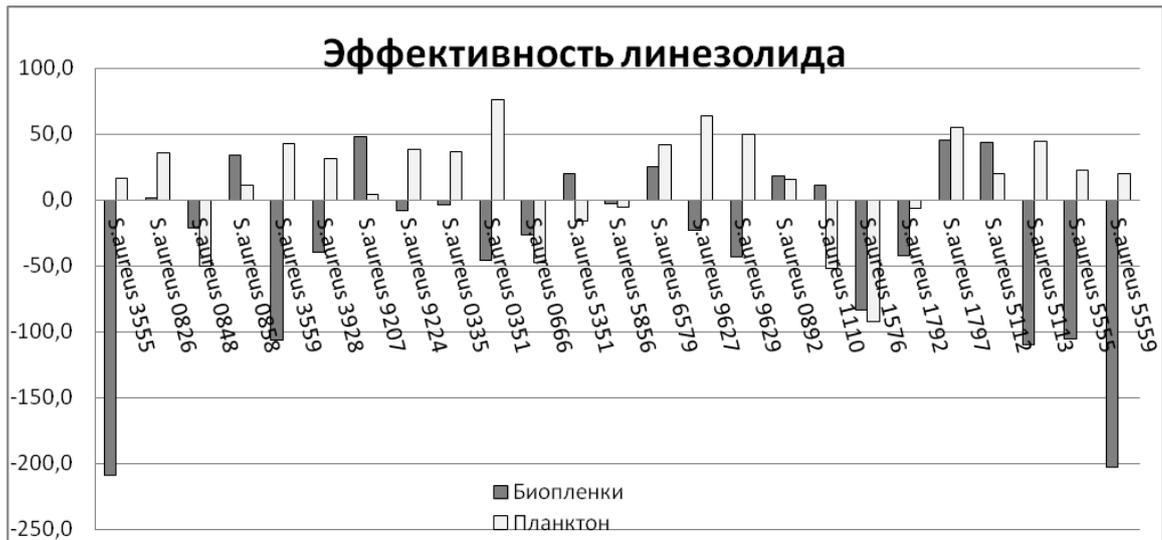


Рисунок 4.6. Эффективность линезолида в отношении планктонных форм стафилококков и в составе биопленок, %

4.2.4. Эффективность рифампицина в отношении планктонных и sessильных форм стафилококков

Однократное внесение рифампицина в инкубационную среду было менее эффективно в отношении микробных биопленок в сравнении с действием на планктонные формы (рис. 4.7): 14 изолятов (56%) продолжили формирование биопленки после внесения антибиотика. Кроме того, в 7 случаях (28%) рифампицин был неэффективен в отношении планктонных форм. В целом, среди тестируемых изолятов устойчивость к рифампицину планктонной и sessильной форм установлена у 5 штаммов (20%), в 15 случаях (60%) антибиотик был активен в отношении обеих форм изолятов, в 5 (20%) – положительная эффективность была выявлена только в отношении планктонной формы стафилококков.

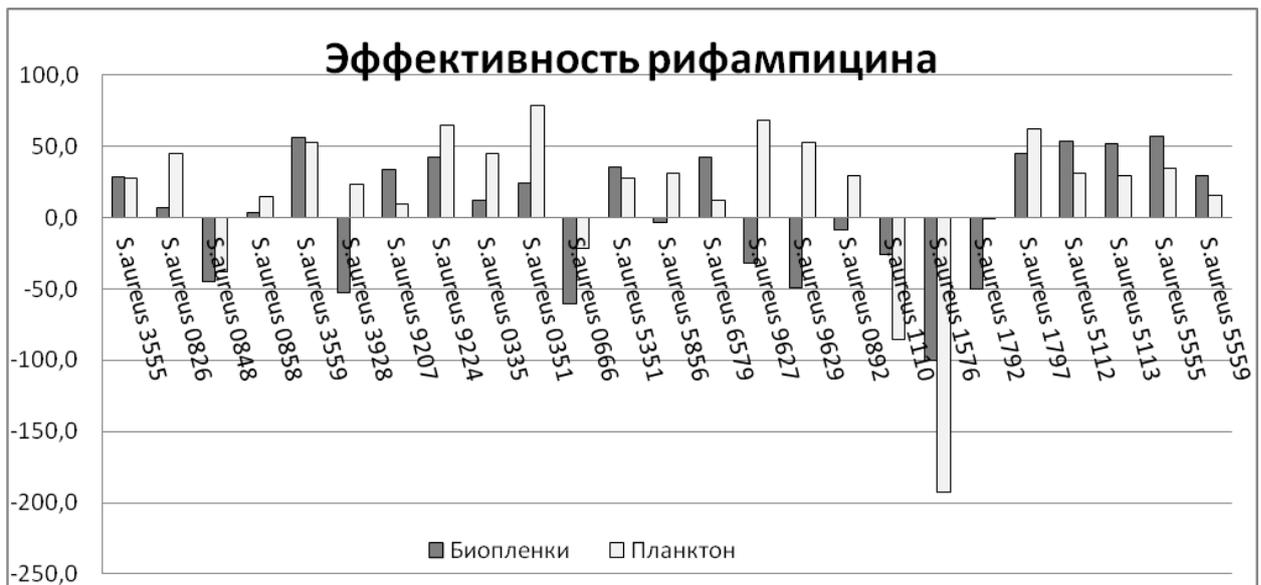


Рисунок 4.7. Эффективность рифампицина в отношении планктонных форм стафилококков и в составе биопленок, %

4.2.5. Эффективность фосфомицина в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков

Как видно на рисунке 4.8 однократное внесение фосфомицина в инкубационную среду было менее эффективно в отношении микробных биопленок в сравнении с действием на планктонные формы: 13 изолятов (52%) продолжили формирование биопленки после внесения антибиотика. Кроме того, в 5 случаях (25%) фосфомицин был неэффективен в отношении планктонных форм. В целом, среди тестируемых изолятов устойчивость к фосфомицину планктонной и сессильной форм установлена у 4 штаммов (16%), в 11 случаях (44%) антибиотик был активен в отношении обеих форм изолятов, в 10 (40%) – положительная эффективность была выявлена только в отношении планктонной формы стафилококков.

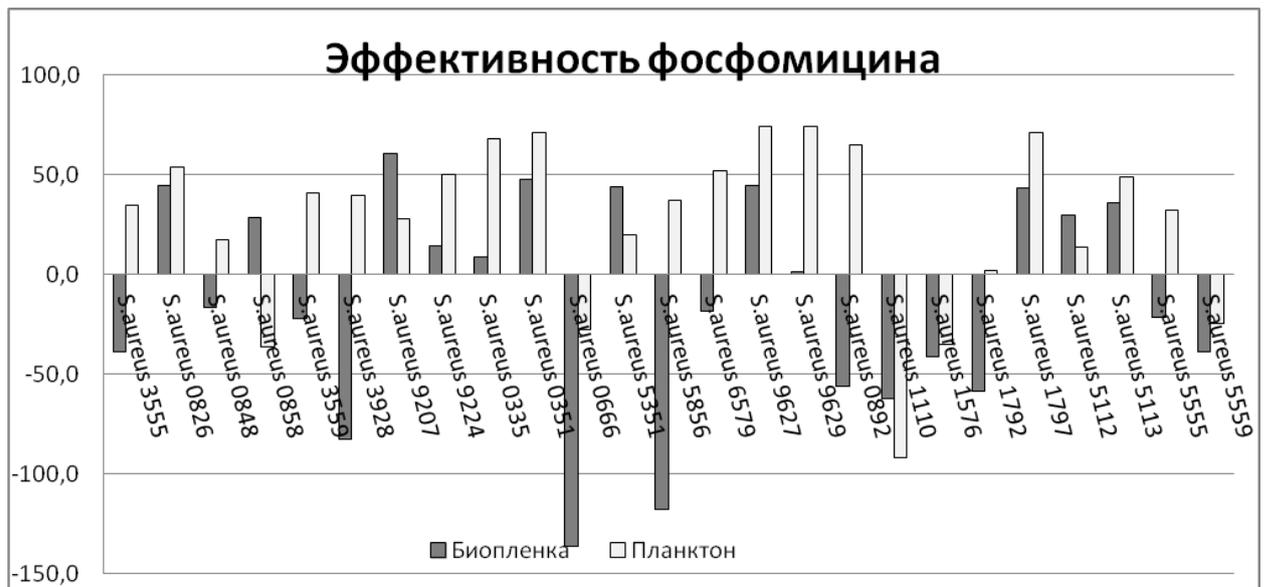


Рисунок 4.8. Эффективность фосфомицина в отношении планктонных форм стафилококков и в составе биопленок, %

4.2.6. Эффективность моксифлоксацина в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков

Как видно на рисунке 4.9 однократное внесение моксифлоксацина в инкубационную среду было менее эффективно в отношении микробных биопленок в сравнении с действием на планктонные формы: 13 изолятов (52%) продолжили формирование биопленки после внесения антибиотика. Кроме того, в 5 случаях (25%) моксифлоксацин был неэффективен в отношении планктонных форм. В целом, среди тестируемых изолятов устойчивость к моксифлоксацину планктонной и сессильной форм установлена у 4 штаммов (16%), в 11 случаях (44%) антибиотик был активен в отношении обеих форм изолятов, в 3 (12%) – положительная эффективность была выявлена только в отношении планктонной формы стафилококков. Кроме того, в 7 случаях (28%) была установлена активность моксифлоксацина только в отношении штаммов в составе биопленки.

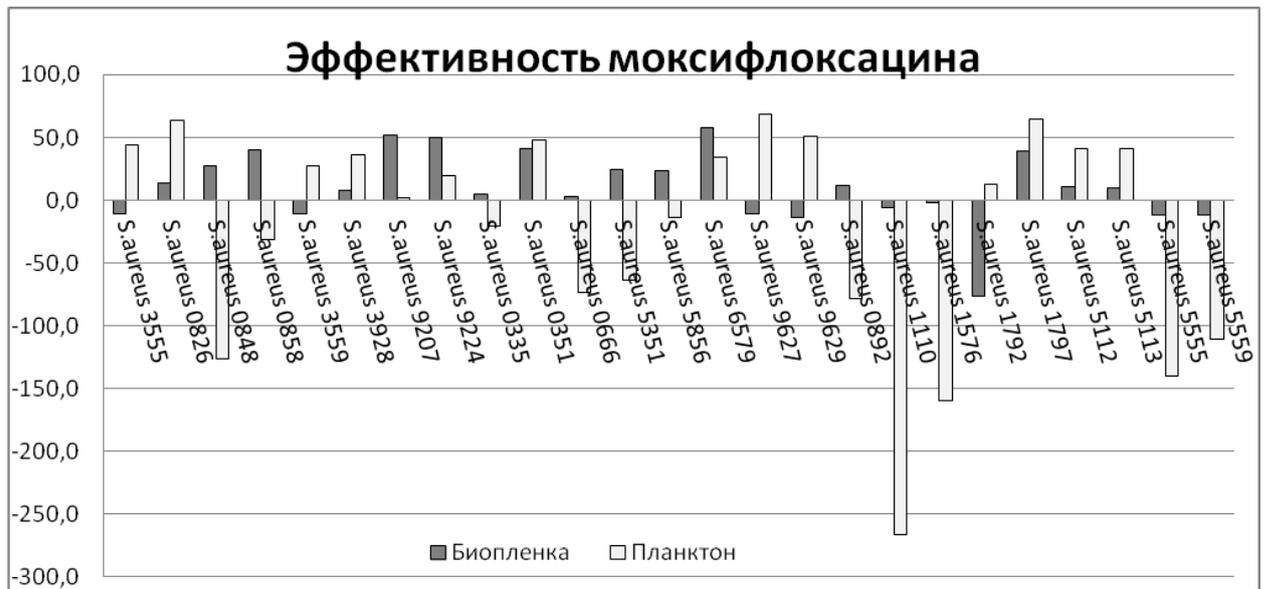


Рисунок 4.9. Эффективность моксифлоксацина в отношении планктонных форм стафилококков и в составе биопленок, %

4.2.7. Эффективность ко-тримоксазола в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков

Как видно на рисунке 4.10 однократное внесение ко-тримоксазола в инкубационную среду было менее эффективно в отношении микробных биопленок в сравнении с действием на планктонные формы: 16 изолятов (64%) продолжили формирование биопленки после внесения антибиотика. Кроме того, в 10 случаях (40%) ко-тримоксазол был неэффективен в отношении планктонных форм. В целом, среди тестируемых изолятов устойчивость к ко-тримоксазолу планктонной и сессильной форм установлена у 10 штаммов (40%), в 8 случаях (32%) антибиотик был активен в отношении обеих форм изолятов, в 4 (16%) – положительная эффективность была выявлена только в отношении планктонной формы стафилококков. Кроме того, в 3 случаях (12%) была установлена активность ко-тримоксазола только в отношении штаммов в составе биопленки.

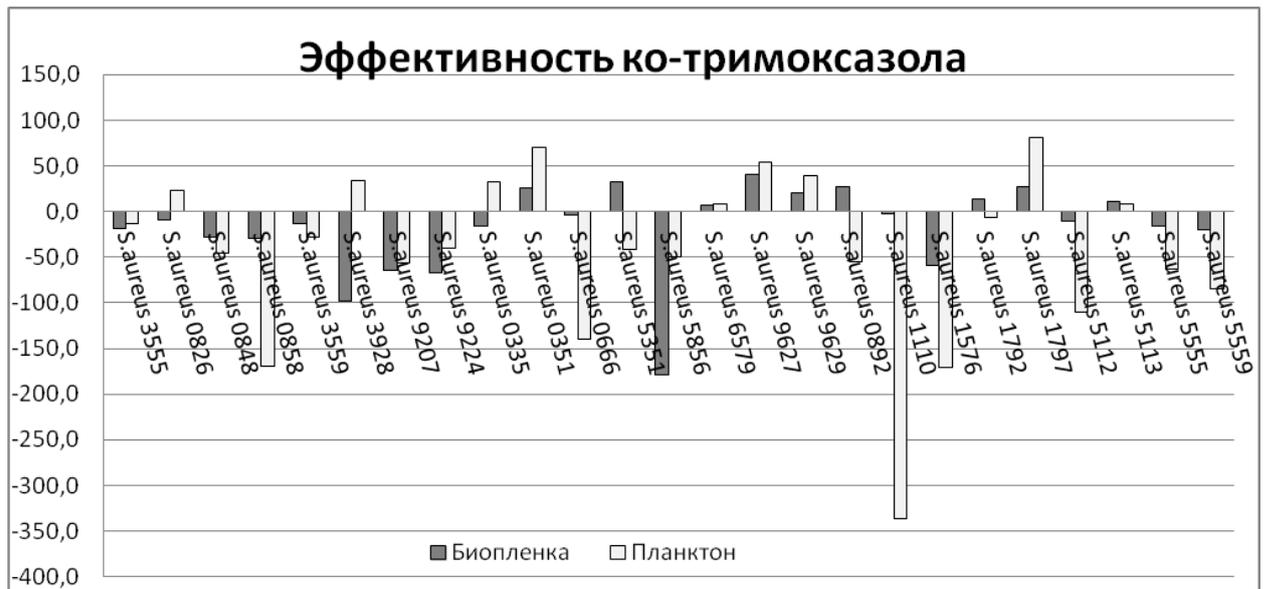


Рисунок 4.10. Эффективность ко-тримоксазола в отношении планктонных форм стафилококков и в составе биопленок, %

4.2.8. Эффективность гентамицина в отношении планктонных и сессильных форм стафилококков

Как видно на рисунке 4.11 однократное внесение гентамицина в инкубационную среду было более эффективным в отношении микробных биопленок в сравнении с действием на планктонные формы: только 3 изолята (12%) продолжили формирование биопленки после внесения антибиотика. В 8 случаях (32%) гентамицин был неэффективен в отношении планктонных форм. В целом, только 1 изолят продемонстрировал устойчивость к гентамицину планктонной и сессильной форм, в 15 случаях (60%) антибиотик был активен в отношении обеих форм изолятов, в 2 (8%) – положительная эффективность была выявлена только в отношении планктонной формы стафилококков. Кроме того, в 7 случаях (28%) была установлена активность гентамицина только в отношении штаммов в составе биопленки.

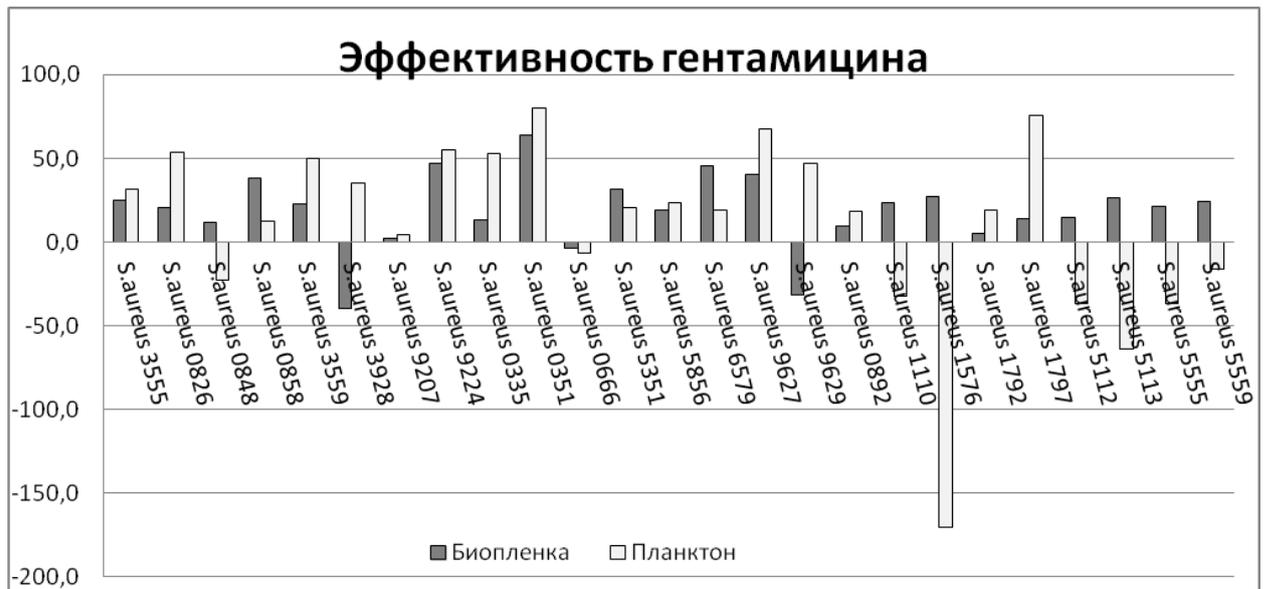


Рисунок 4.11. Эффективность гентамицина в отношении планктонных форм стафилококков и в составе биопленок, %

4.2.9. Особенности чувствительности тестируемых штаммов к антибиотикам в зависимости от формы их существования

Как видно из рисунка 4.12 ванкомицин, даптомицин, линезолид, рифампицин, фосфомицин и моксифлоксацин были существенно более активны ($p < 0,05$) в отношении планктонных форм исследуемых изолятов, в сравнении с бактериями в составе зрелой биопленки. Наименьшая активность в отношении планктонных форм была установлена у ко-тримоксазола. Единственным антибиотиком, активность которого в отношении sessильных форм стафилококков была больше, чем планктонных (рис. 4.12), был гентамицин. Он затормозил рост зрелой биопленки у 88% штаммов и замедлил формирование биопленки только у 68% изолятов в планктонной форме. Кроме того, гентамицин и рифампицин в 60% случаев продемонстрировали свою активность в независимости от формы существования исследуемых штаммов.

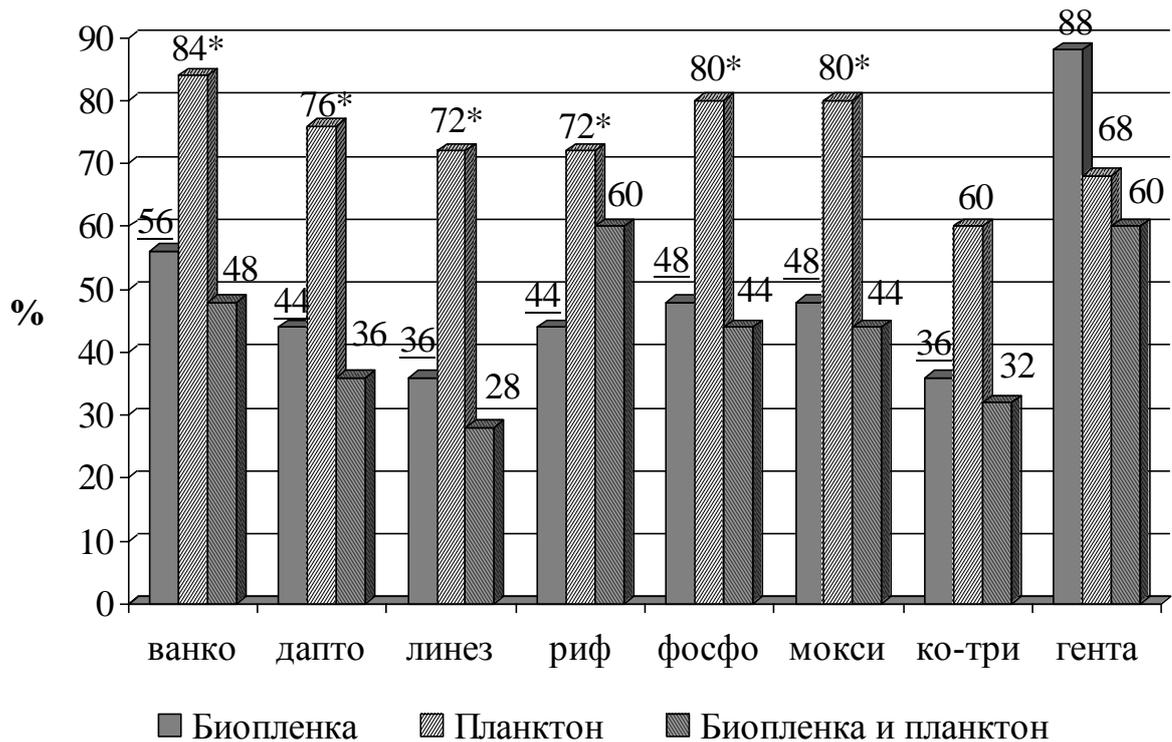


Рисунок 4.12. Доля штаммов в составе биопленки и планктонной форме, в отношении которых была установлена активность антибиотиков

Здесь и далее:

Биопленка – доля штаммов, в отношении биопленочной формы которых был установлен положительный эффект антибиотика,

Планктон – доля штаммов, в отношении планктонной формы которых был установлен положительный эффект антибиотика,

Биопленка и планктон – доля штаммов, в отношении которых был установлен положительный эффект антибиотика независимо от формы их существования,

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

56 – достоверно ($p < 0,01$) отличается от аналогичного показателя для гентамицина

Кроме того, установлено, что антибиотики с наиболее выраженной анти-MR-активностью (ванкомицин, даптомицин, линезолид, фосфомицин) в большей степени были эффективны в отношении планктонных форм – в 36–52% случаев было подавлено формирование биопленки только при воздействии на планктонные формы штаммов (рис. 4.13), в то время, как эти же изоляты в составе зрелой биопленки были устойчивы к воздействию названных

антибиотиков. В то же время моксифлоксацин и гентамицин в 28% случаев были эффективны в отношении только сессильных форм штаммов.

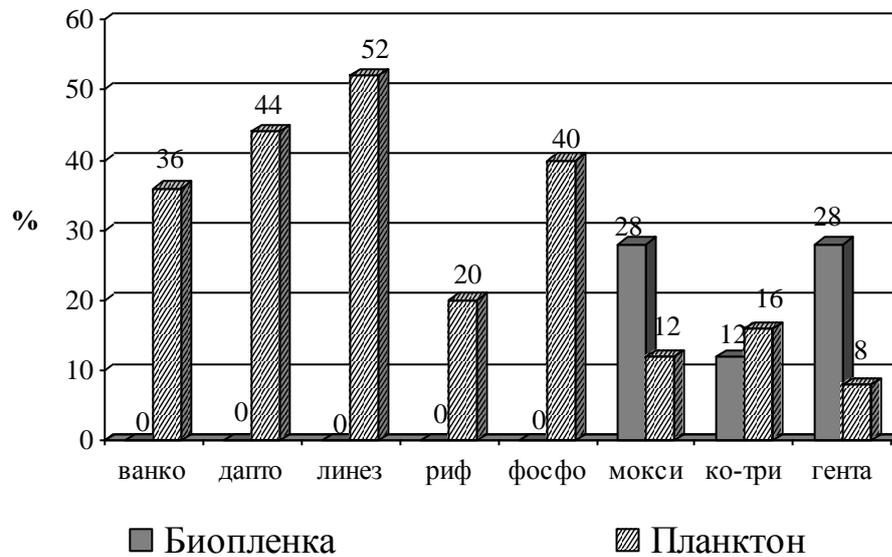


Рисунок 4.13 Доля штаммов, которые продемонстрировали чувствительность к антибиотикам или в составе биопленки, или в планктонной форме, %

4.3. Результаты исследования комбинированного действия сывороточных концентраций исследуемых антибиотиков с моксифлоксацином на формирование биопленок клиническими штаммами MRSA

Стратегия применения комбинированной антимикробной терапии решает несколько задач: 1. снижение риска развития резистентности у возбудителей к индивидуальным препаратам, 2. повышение эффективности воздействия на возбудителя инфекции при синергидном сочетании антибиотиков, 3. снижение нежелательного побочного действия наиболее токсичных отдельных составляющих комбинации за счет уменьшения вводимых доз. Данный этап явился продолжением предыдущего и включал последовательное изучение сывороточных концентраций антибиотиков ванкомицин (20), даптомицин (60), линезолид (15), рифампицин (4), фосфомицин (25), ко-тримоксазол (9), гентамицин (16) при совместном действии каждого из указанных препаратов с моксифлоксацином в концентрации 4,5 мкг/мл. Две фазы исследований

включали оценку эффективности указанных комбинаций в отношении планктонных форм изучаемых штаммов, а также на сформированную этими штаммами зрелую биопленку.

4.3.1 Результаты анализа значений ОП после совместной инкубации антибиотиков в комбинации с моксифлоксацином на планктонные и sessильные формы MRSA-ИЗОЛЯТОВ

Абсолютные значения результатов измерения ОП (таблица 4.6.) выявляют тенденцию снижения данного показателя при действии антимикробных комбинаций на биопленки, по сравнению с их действием на планктонные формы.

Таблица 4.7

Результаты измерения оптической плотности (ОП) после воздействия комбинаций антибиотиков на планктонные формы и зрелую биопленку

Антимикробная комбинация	АБ1 доза, мкг/мл	Планктон			Биопленка			p
		Мср ОП	min	max	Мср ОП	min	max	
Ванкомицин + МХФ	20	0,30	0,10	0,63	0,27	0,14	0,43	0,18
Даптомицин + МХФ	60	0,28	0,10	0,68	0,22	0,13	0,40	0,01
Линезолид + МХФ	15	0,39	0,13	0,60	0,27	0,13	0,40	0,001
Рифампицин + МХФ	4	0,36	0,12	0,69	0,36	0,19	1,2	0,85
Фосфомицин + МХФ	25	0,29	0,16	0,82	0,26	0,15	0,43	0,26
Ко-тримаксозол + МХФ	9	0,45	0,20	0,73	0,32	0,12	0,73	0,002
Гентамицин + МХФ	16	0,44	0,14	0,70	0,30	0,12	0,65	0,002
Контроль (без АБ)	–	0,36	0,13	0,37	0,28	0,12	0,82	0,062
Моксифлоксацин (МХФ)	4,5	0,44	0,14	0,99	0,37	0,11	0,97	0,03

Здесь и далее по разделу 4.3: МХФ – международное сокращение названия моксифлоксацин; 4,5 (мкг/мл) – доза моксифлоксацина в антимикробной комбинации

4.3.2. Результаты анализа сравнительной эффективности антибиотиков и их комбинаций с моксифлоксацином в отношении планктонных форм штаммов MRSA *in vitro*

Сравнительный анализ результатов оценки эффективности отдельных антибиотиков и их комбинаций с моксифлоксацином 4,5 мкг/мл представлен на рисунке 4.14. Результаты показывают, что ванкомицин, даптомицин и фосфомицин в монопрепарате и в комбинации оказывали ингибирующий эффект на биопленкообразование тестируемых штаммов стафилококков. У ванкомицина и даптомицина среднее значение эффективности в комбинации было несколько выше: 4,9 vs. 11,8%; и 14,3 vs. 16,8 ($p > 0,5$). Средняя эффективность линезолида, рифампицина, ко-тримоксазола (при моно- и комбинированном применении) была отрицательна в отношении штаммов MRSA из включенной в исследование выборки. У ко-тримоксазола это проявилось особенно явно: средняя эффективность препарата составила – 61,5 и – 40,6% для моно- и комбинированного действия, соответственно. Средняя эффективность комбинации гентамицина также приобрела отрицательное значение, эффективность монопрепарата – близка к нулю (–38,6 и –0,5% соответственно).

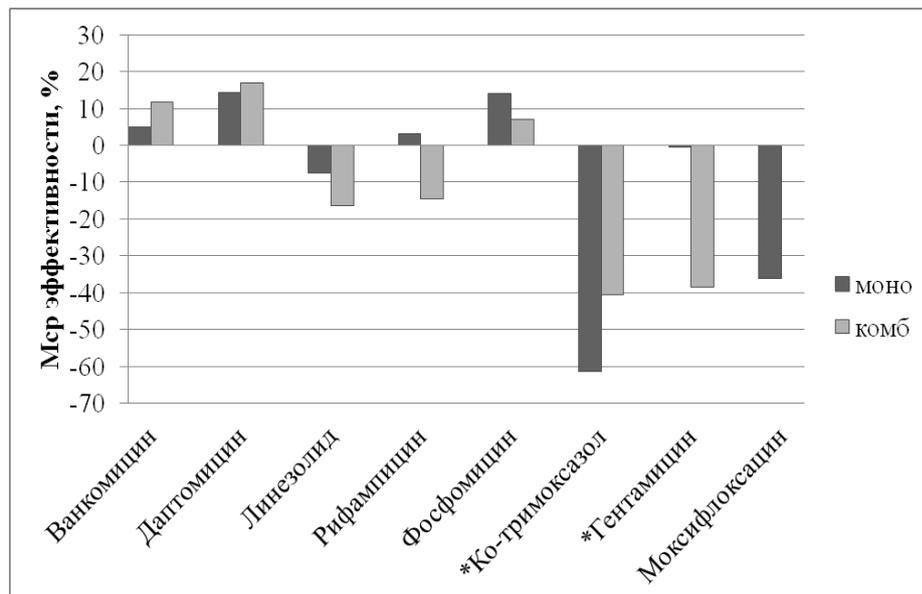


Рис 4.14. Сравнительная эффективность (М ср.) воздействия антибиотиков (моно) и их комбинаций с моксифлоксацином (комб) на планктонные формы MRSA

* – $p < 0,05$

Однако, сравнение количества MRSA-изолятов, в отношении которых была установлена положительная эффективность антибиотиков, и их комбинаций показало, что у значительной доли штаммов, включенных в исследование, удалось достичь ингибиции биопленкообразования под воздействием указанных антибиотиков и их комбинаций с моксифлоксацином.

От 5 (гентамицин с моксифлоксацином) до 21 (даптомицин + моксифлоксацин) штаммов стафилококков из тестируемой выборки снижали уровень биопленкообразования при экспонировании их планктонных форм с антимикробными комбинациями (табл. 4.7). Наибольшие средние показатели положительной эффективности в отношении планктонных клеток установлены у ванкомицина, даптомицина, фосфомицина. Средние показатели положительной эффективности антимикробных комбинаций составили (%/n штаммов): у ванкомицина 27,8/19; даптомицина 32,2/21; фосфомицина 38,5/18. Также высокие показатели, но в отношении меньшего числа штаммов, у комбинаций моксифлоксацина с рифампицином 40,6/10; линезолидом 37,3/10; ко-тримоксазолом и гентамицином – приблизительно в отношении одной пятой штаммов, 29,4/7 и 58,5/5; соответственно.

Таблица 4.7

Средние показатели положительной эффективности влияния антимикробных комбинаций на ингибицию биопленкообразования планктонными формами

Показатели эффективности	Ванкомицин +MXF	Даптомицин + MXF	Линезолид + MXF	Рифампицин + MXF	Фосфомицин + MXF	Ко-тримоксазол + MXF	Гентамицин+ MXF
Доля штаммов с (+) эффектом, %	76	84	40	40	72	28	20
М ср.(+) эффективности, %	27,8	32,2	37,3	40,6	38,4	29,4	58,5
ДИ	±13,1	±14,7	±19,5	±22,8	±21,7	±23,8	±30,3

Здесь и далее: ДИ – границы доверительных интервалов

Сравнительный анализ результатов с положительным эффектом от воздействия как моно- так и комбинированных препаратов, представлен на рисунке 4.15. Даптомицин и фосфомицин демонстрировали в комбинации с моксифлоксацином активность в отношении несколько большего количества штаммов, по сравнению с моно-препаратами. Показатели средней эффективности у антимикробных комбинаций были выше таковых при моно-воздействии в среднем на 13,6% (от 0,6 до 37%). Гентамицин существенно снизил свою активность в комбинации. В соответствии с границами 95% ДИ, у гентамицина и его комбинации положительные эффекты различались достоверно: 58,5% (n=16) и 21,3% (n=5), соответственно ($<0,05$).

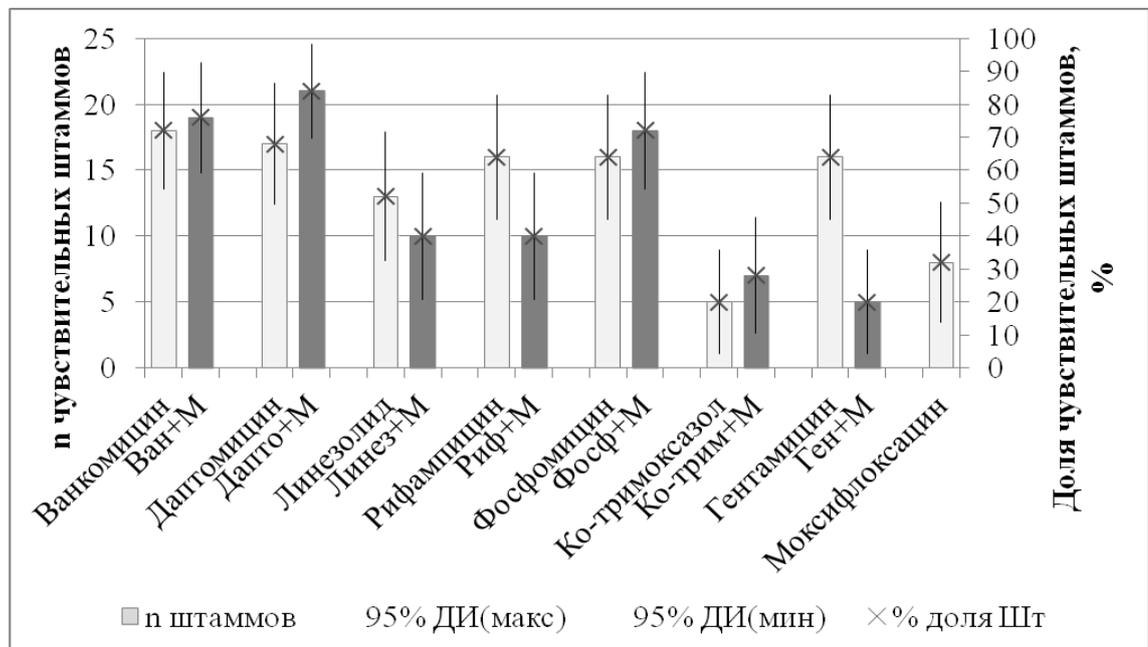


Рисунок 4.15. Активность антибиотиков и их комбинаций с моксифлоксацином (М) в отношении планктонных форм MRSA

4.3.3. Оценка эффективности ванкомицина и даптомицина в комбинации с моксифлоксацином в отношении планктонных форм штаммов MRSA в зависимости от уровня МИК по ванкомицину

Как следует из представленных в таблице характеристик штаммов (табл. 4.3), две трети тестируемых изолятов имеют МИК по ванкомицину не менее 1,5

мкг/мл, из них у половины – 2 мкг/мл. Ранее было показано, что ванкомицин и даптомицин в комбинациях с моксифлоксацином были наиболее эффективны в отношении планктонных форм большего числа штаммов, по сравнению с комбинациями других антибиотиков (табл.4.6). Выявлено, что уровни эффективности АБ-комбинаций в отношении штаммов стафилококков с МИКванко <1,5 мкг/мл выше ($p<0,05$), чем у изолятов с МИК 1,5 и 2 мкг/мл (рис. 4.16). Приведенные в диаграмме данные подтверждают тезис о снижении эффективности действия комбинации ванкомицина и моксифлоксацина в отношении планктонных форм штаммов MRSA при возрастании МИК ванкомицина. Кроме того, аналогичная закономерность установлена и для комбинации моксифлоксацина с даптомицином.

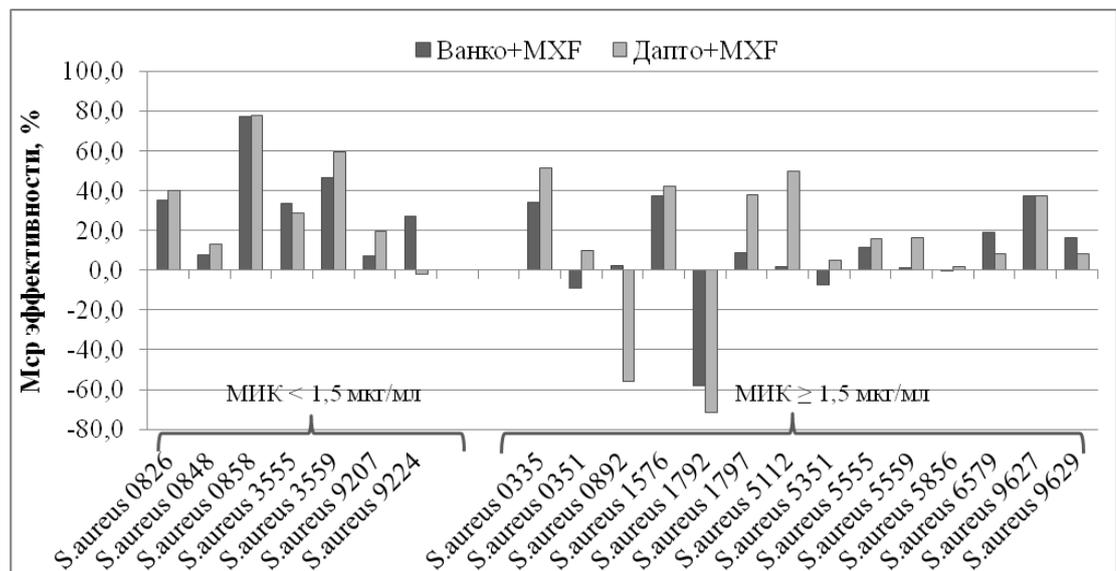


Рисунок 4.16. Сравнительная эффективность действия ванкомицина (Ванко) и даптомицина (Дапто) в комбинации с моксифлоксацином (MXF) в отношении планктонных форм штаммов MRSA с различными значениями МИК ванкомицина

Кроме того, в большинстве случаев достоверно снижается эффективность антимикробных комбинаций всех тестируемых препаратов в отношении планктонных форм штаммов MRSA с МИКван, значения которых превышают 1,5 мкг/мл, по сравнению со штаммами с МИК менее 1,5 мкг/мл (табл. 4.8).

Сравнительная оценка показателей эффективности комбинаций в отношении планктонных форм штаммов MRSA с МИК ванкомицина $< 1,5$ и $\geq 1,5$ мкг/мл

МИК ванкомицина, мкг/мл	Ванкомицин +МХФ	Даптомицин + МХФ	Линезолид + МХФ	Рифампицин + МХФ	Фосфомицин + МХФ	Ко- тримоксазол + МХФ	Гентамицин+ МХФ
$<1,5$	33,6	33,9	15,1	23,2	22,8	-0,2	-12,8
$\geq 1,5$	6,9	11,2	-25,2	-27,9	10,8	-55,9	-30,1
p	0,028	0,06	0,05	0,05	0,47	0,03	0,44

4.3.4 Оценка эффективности сывороточных концентраций антибиотиков в комбинации с моксифлоксацином в отношении планктонных форм штаммов MRSA в зависимости от способности к биопленкообразованию (БПО)

В данном разделе представлены результаты сравнительной оценки эффективности антимикробных комбинаций в отношении штаммов MRSA, обладающих различной степенью способности к БПО.

По результатам тестирования 60% исследуемых штаммов были сильными биопленкообразователями (БПО-1), 40% штаммов – слабыми (БПО-0). Установлено, что у планктонных форм штаммов с БПО-0 заметное повышение значений ОП в процессе экспонирования к сывороточным концентрациям АБ в комбинациях с моксифлоксацином. Таким образом, установлено снижение эффективности тестируемых комбинаций до отрицательных значений в отношении планктонных форм штаммов MRSA с характеристиками БПО-0, по сравнению с тем, как действовали те же комбинации в отношении планктонных форм штаммов с БПО-1, что отражено на рисунке 4.17 в виде общей картины.

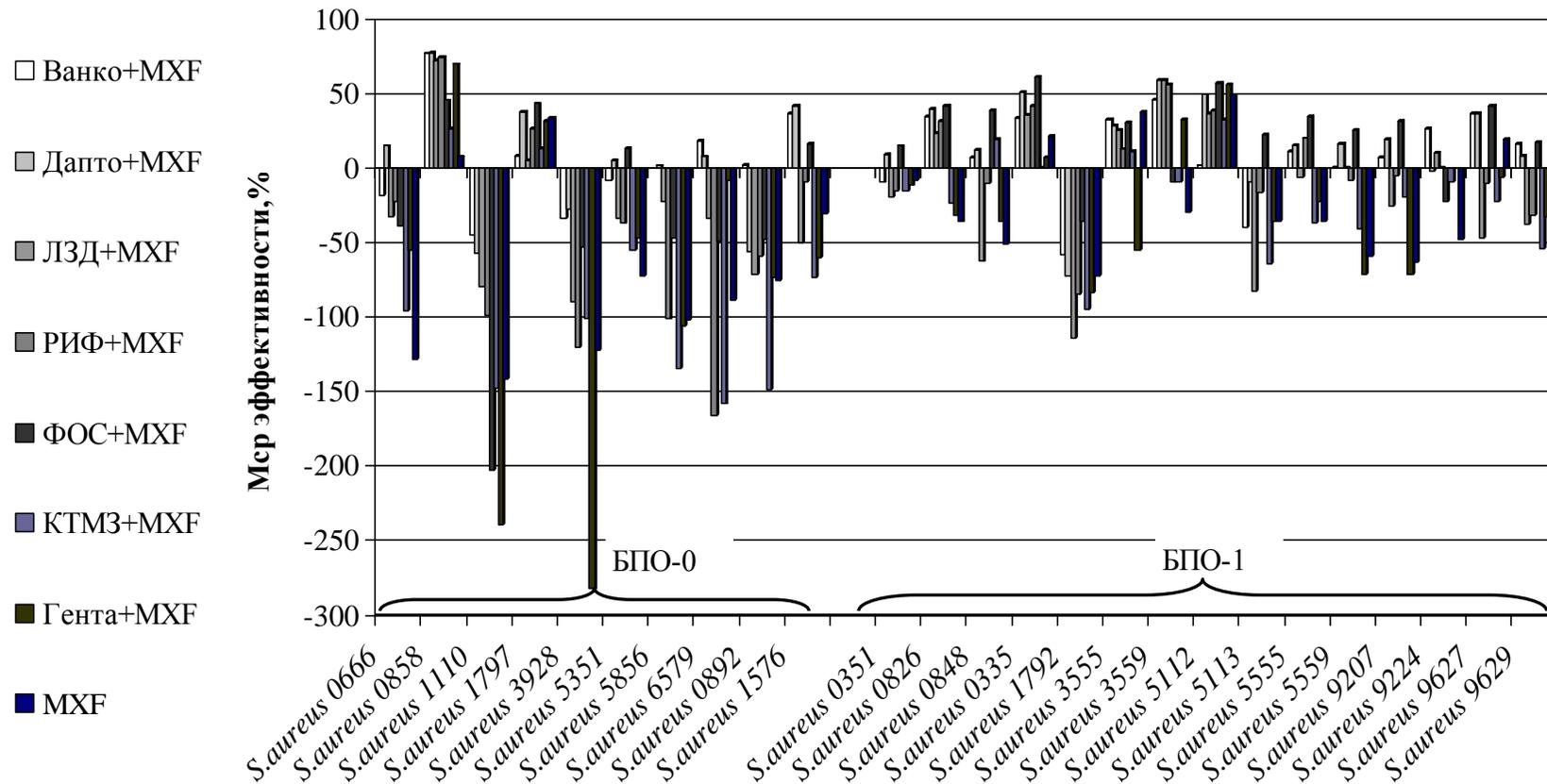


Рисунок 4.17. Общая картина эффективности исследуемых антибиотиков в комбинации с моксифлоксацином в отношении штаммов MRSA с различной способностью к БПО

Здесь и далее: Ванко – ванкомицин 20 мкг/мл, Дапто – даптомицин 60 мкг/мл, ЛЗД – линезолид 15 мкг/мл, РИФ – рифампицин 4 мкг/мл, ФОС – фосфомицин – 25 мкг/мл, КТМЗ – ко-тримоксазол 9 мкг/мл, Гента – гентамицин 16 мкг/мл, MXF – моксифлоксацин 4,5 мкг/мл

На рисунке 4.17 видно, что большинство тестируемых антибиотиков демонстрировало отсутствие активности в отношении определенных изолятов, особенно с БП-0. К примеру, штаммы MRSA 0858 и 1797 затормозили формирование биопленки под действием всех тестируемых антибиотиков, в то время как у штаммов MRSA 0666, 1110, 3928, 6579 и 0892 исследуемые концентрации препаратов, по-видимому, вызвали стимуляцию формирования биопленки, что выражено в резком снижении расчетного показателя – процента эффективности (рис. 4.17). При действии ванкомицина, даптомицина и фосфомицина в комбинации с моксифлоксацином, указанная реакция со стороны MRSA-штаммов была менее выражена (рис. 4.18). По сравнению с другими протестированными АБ-комбинациями указанные сочетания препаратов в среднем были более эффективны в отношении планктонных форм исследуемых штаммов с БПО-1 (табл. 4.9).

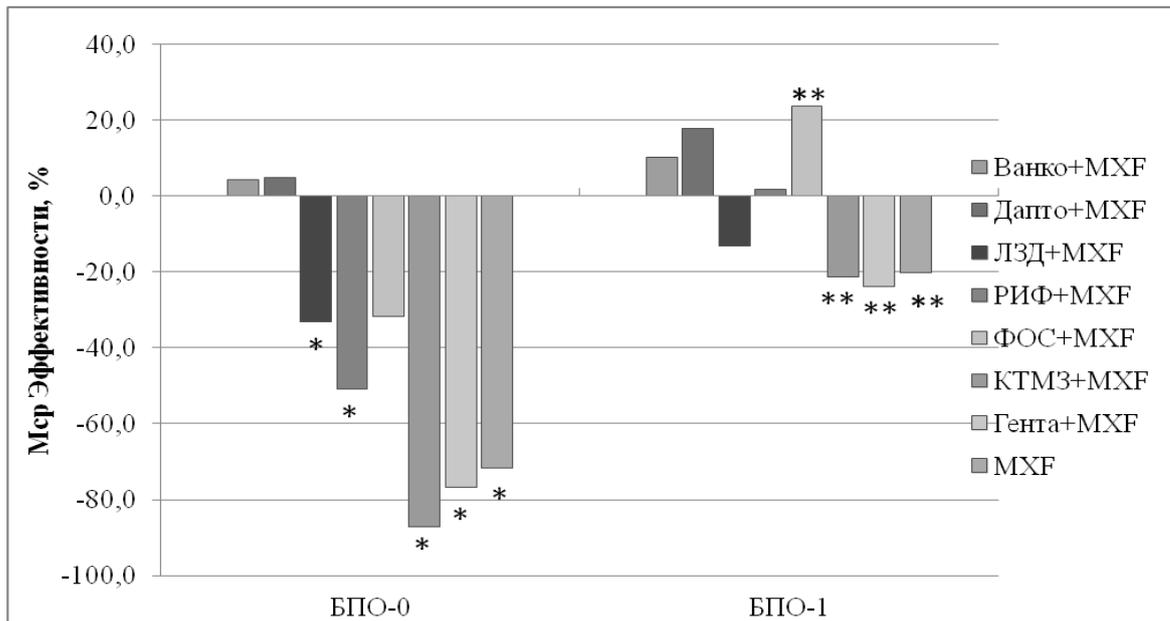


Рисунок 4.18. Средние показатели эффективности АБ-комбинаций в отношении планктонных форм штаммов MRSA с различной способностью к БПО

* – $p \leq 0,01$ по сравнению с комбинацией ванкомицина (БПО-0);

** – $p \leq 0,05$, по сравнению с БПО-0.

Сравнительная оценка показателей эффективности комбинаций в отношении планктонных форм штаммов MRSA с БПО-0 и БПО-1

М ср. эффективности	Ванкомицин +МХФ	Даптомицин + МХФ	Линезолид + МХФ	Рифампин + МХФ	Фосфомицин + МХФ	Ко- тримоксазол + МХФ	Гентамицин +МХФ
Изоляты с БПО-0	4,2	4,9	-33,2	-51,0	-31,6	-87,2	-76,6
Изоляты с БПО-1	10,3	17,8	-13,2	1,7	23,8	-21,3	-23,7
p	0,32	0,20	0,16	0,01	0,01	0,002	0,05

4.3.5. Результаты сравнительного анализа эффективности АБ-комбинаций в отношении сессильных и планктонных форм MRSA

Даптомицин в комбинации с моксифлоксацином по своей эффективности в отношении сессильных форм всех исследованных штаммов превосходил другие тестируемые АБ-комбинации (табл.4.10). Кроме того, около половины изолятов под действием комбинаций моксифлоксацина с фосфомицином и линезолидом также затормозили рост зрелой биопленки. Наименьшая эффективность в данной серии опытов была у рифампицина. Результаты сравнения эффективности АБ-комбинаций в отношении планктонных форм штаммов, а также зрелой биопленки показывают, что эффективность комбинаций в отношении биопленок ниже, по сравнению с эффективностью в отношении планктона. Детальный анализ эффективности показывает, что на воздействие антимикробных комбинаций различные штаммы и в планктонной, и в сессильной форме, отвечали по-разному. На диаграмме (рис. 4.19) приведены сравнительные данные о средней эффективности в отношении обеих форм штаммов, чувствительных к воздействию АБ-комбинаций.

Показатели средней эффективности антимикробных комбинаций с моксифлоксацином (М4,5) в отношении зрелой биопленки штаммов MRSA (n=25)

Показатели эффективности	Ванкомицин +МХФ	Даптомицин + МХФ	Линезолид ци+ МХФ	Рифампин + МХФ	Фосфомоцицин + МХФ	Ко-тримоксазол + МХФ	Гентамицин +МХФ
доля штаммов с (+) эффектом, %	40	76	52	20	56	36	48
М ср. (+) эффективности, %	29,6	30,4	20,7	24,5	23,3	26,5	25,5
ДИ	±15,9	±14,5	±15,3	±16,6	±15,3	±19,3	±23,2

В большинстве случаев (рис. 4.19) эффективность комбинаций выше в отношении планктонных форм, чем в отношении sessильных ($p>0,5$), за исключением комбинаций линезолида, ко-тримоксазола и гентамицина, которые в среднем были несколько эффективнее в отношении зрелой биопленки ($p>0,5$).

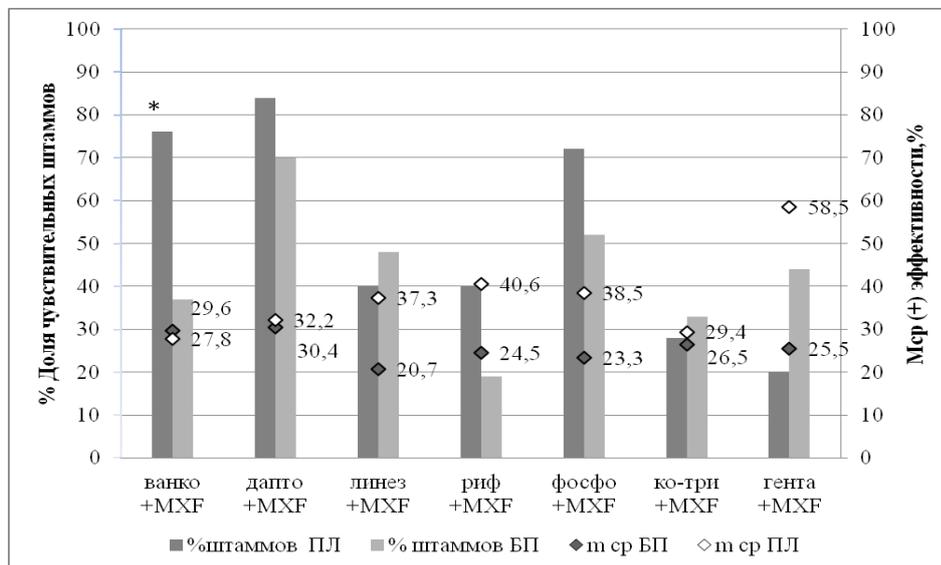


Рисунок 4.19. Сравнительный анализ эффективности антимикробных комбинаций с моксифлоксацином в отношении планктонных (ПЛ) и sessильных (БП) форм наиболее чувствительных штаммов

* – $p<0,05$ в сравнении с БП,

- столбцы – доля чувствительных к АБ-комбинациям штаммов,
- маркеры – М ср эффективности, %,

Применение более строгого критерия эффективности в 25% дает возможность установить число наиболее эффективных АБ-комбинаций в отношении зрелой биопленки (рис. 4.20). Ванкомицин, даптомицин, линезолид и фосфомицин показали преимущество по уровню эффективности и по числу штаммов, в отношении которых эффективность была не менее 25% ($p > 0.5$).

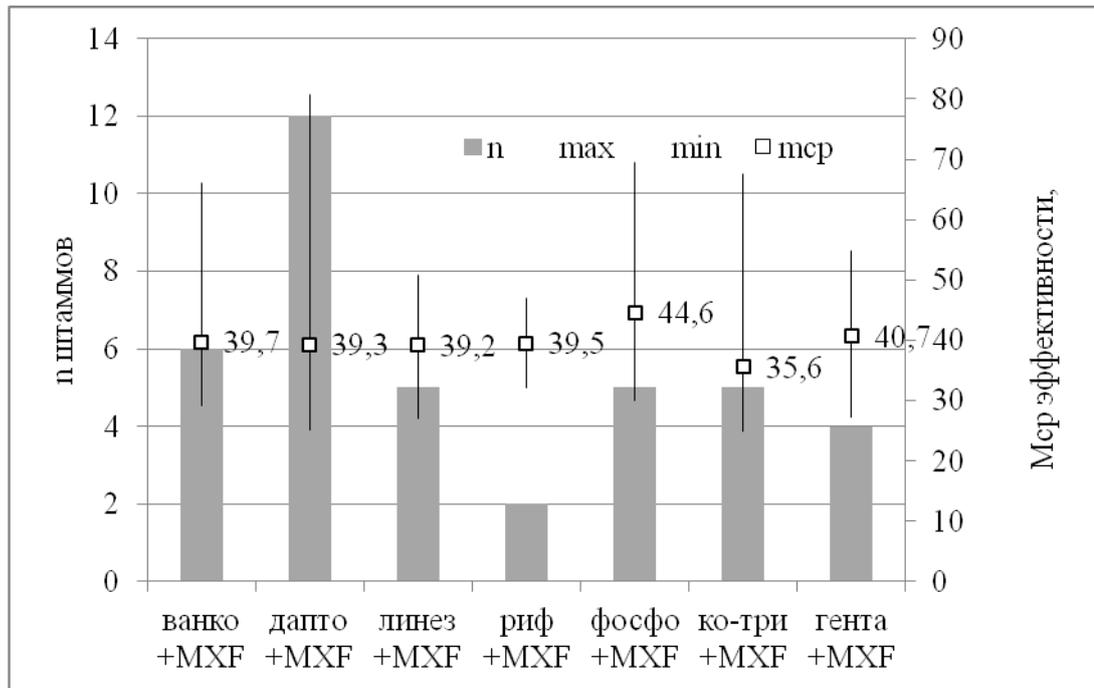


Рисунок 4.20. Наиболее активные в отношении sessile форм MRSA – штаммов антимикробные комбинации, которые продемонстрировали эффективность более 25%

- столбцы – количество штаммов (n), в отношении которых установлена (+) эффективность действия АБ-комбинаций;
- маркеры – Mcp эффективности (%) с минимальными и максимальными значениями

При сравнении действия на sessile формы антимикробных препаратов в виде монодействия и их комбинаций с моксифлоксацином, установлено (рис. 4.21), что даптомицин в сочетании с моксифлоксацином существенно улучшил средний показатель эффективности ($p < 0,01$), в то время как для рифампицина и гентамицина в составе комбинации с моксифлоксацином выявлено значимое снижение эффективности ($p < 0,05$).

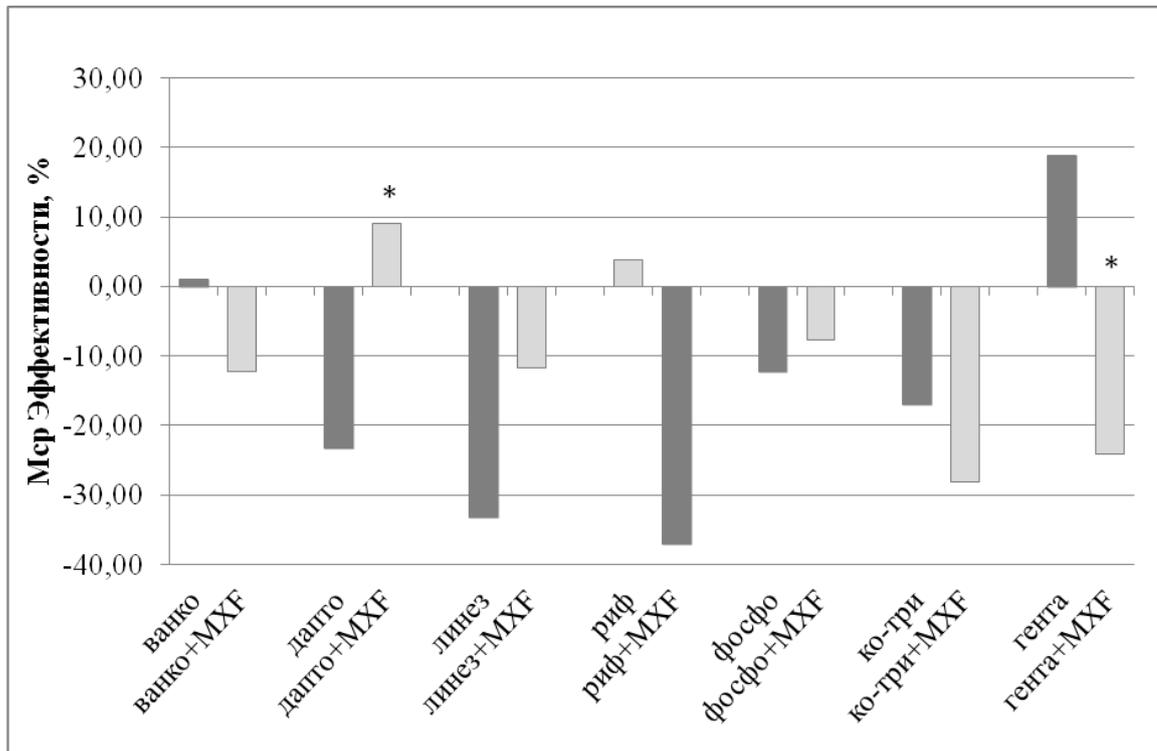


Рисунок 4.21. Сравнительная гистограмма эффективности (Mcp) АМП и их комбинаций с моксифлоксаценом в отношении сессильных форм MRSA

* – $p < 0,05$ между эффективностью монопрепарата и его комбинацией с моксифлоксаценом

- темные столбики – монопрепараты;
- светлые столбики – комбинации антибиотиков с моксифлоксаценом.

4.3.6. Эффективность антимикробных комбинаций в отношении зрелых биопленок MRSA в зависимости от уровня их чувствительности к ванкомицину

Результаты сравнительного анализа уровня эффективности действия АБ-комбинаций на сессильные формы штаммов MRSA в зависимости от их МИК по ванкомицину представлены на рисунке 4.22. Не установлено достоверных различий в среднем уровне эффективности комбинаций антибиотиков в отношении биопленок, сформированных штаммами с разными МИК ванкомицина. Однако присутствует общая тенденция к некоторому снижению активности исследуемых антибиотиков при действии на штаммы с МИК 1,5 и 2 мкг/мл.

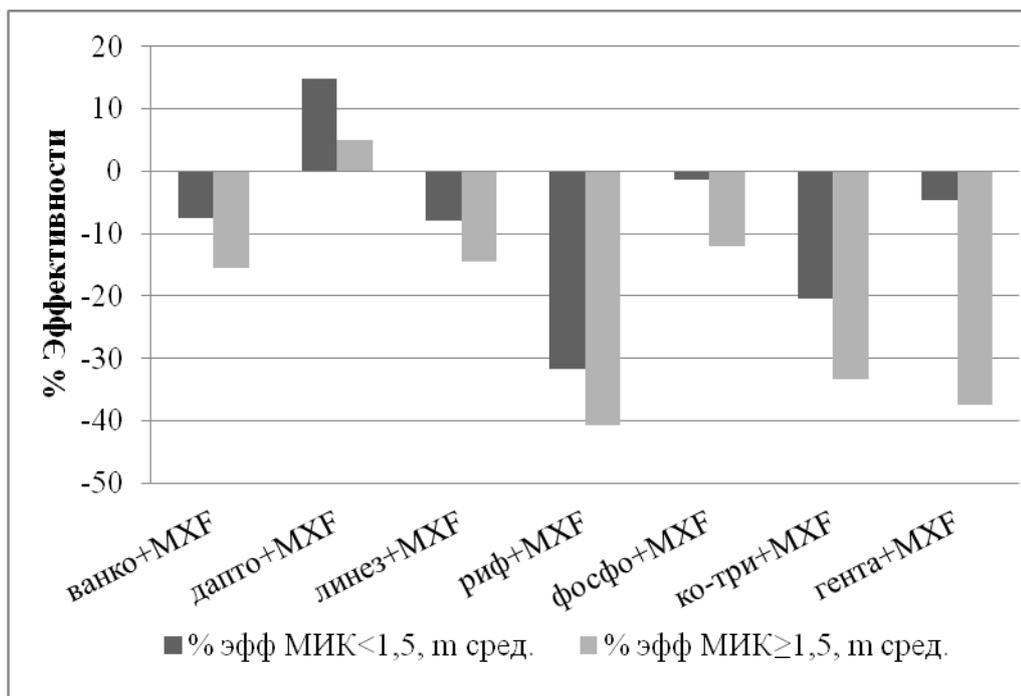


Рисунок 4.22. Средние показатели эффективности АБ-комбинаций в отношении сессильных клеток штаммов MRSA с различными МИК ванкомицина

Анализ доли штаммов, в отношении которых был выявлен положительный эффект антимикробных комбинаций, показал (рис. 4.23), что ванкомицин, рифампицин и гентамицин активнее подавляли рост биопленок штаммов с МИК < 1,5 мкг/мл ($p < 0,05$).

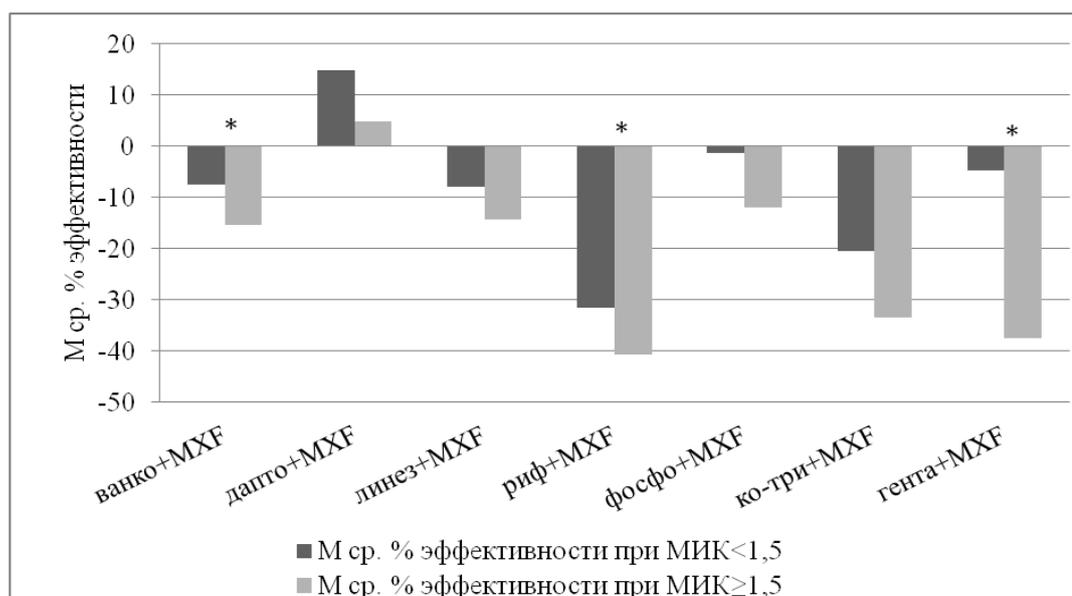


Рисунок 4.23 Влияние МИК ванкомицина на чувствительность штаммов в составе зрелой биопленки к АБ-комбинациям

* – $p < 0,05$ по сравнению с группой штаммов с МИК ≥ 1,5

4.3.7. Эффективность антимикробных комбинаций в отношении зрелых биопленок MRSA, в зависимости от их способности к БПО

Ранее была установлена различная реакция планктонных форм изолятов на АБ-комбинации (табл. 4.7). Результаты сравнительного анализа эффективности АБ-комбинаций в отношении зрелых биопленок сформированных MRSA-штаммами, с разной способностью к БПО, представлены на диаграмме (рис. 4.24). Выявлено, что единственным антибиотиком, который в комбинации с моксифлоксацином, продемонстрировал положительную эффективность в отношении зрелых биопленок штаммов MRSA независимо от их способности к БПО, был даптомицин. В целом, способность к БПО не оказала существенного влияния на средний уровень эффективности АБ-комбинаций, за исключением комбинации с рифампицином, который существенно активнее был в отношении изолятов с БПО-0 ($p < 0,05$).

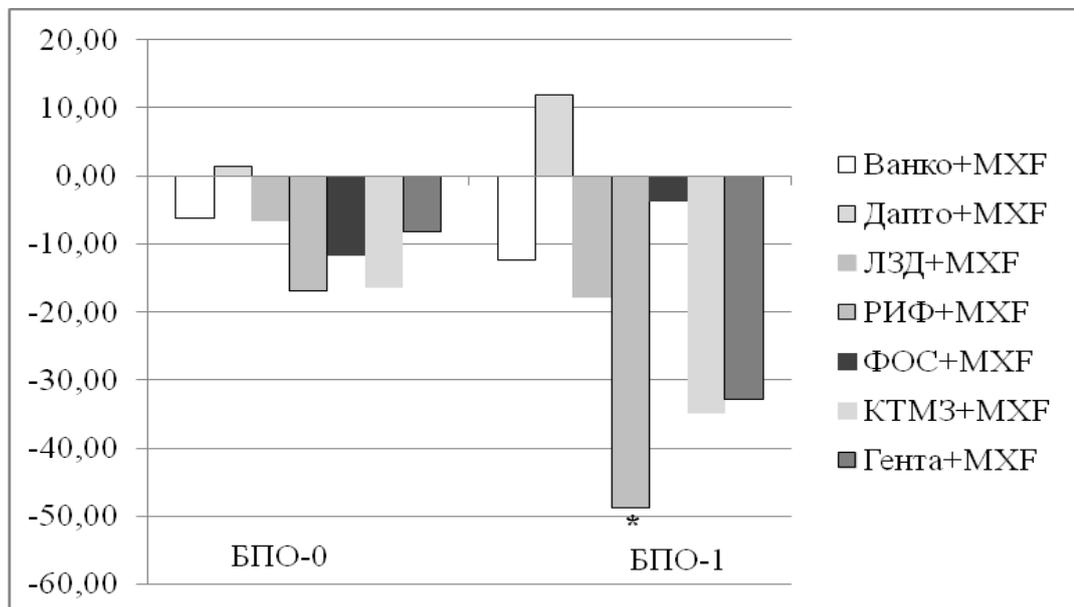


Рисунок 4.24. Средние показатели эффективности АБ-комбинаций в отношении зрелых биопленок штаммов MRSA (n=25) с различной выраженностью способности БПО.

* – $p < 0,05$ по сравнению с группой штаммов с БПО-0

Таким образом, в результате скрининга способности стафилококков к формированию биопленок выявлено, что 40,9% (161/394) штаммов, включенных в настоящее исследование, являлись сильными биопленкообразователями. В свою очередь, стафилококковые изоляты из тканевых биоптатов и с удаленных ортопедических конструкций характеризовались интенсивной продукцией биопленки почти в половине случаев: 47,2 и 47,8%, соответственно, тогда как штаммы, выделенные из аспириатов, значимо реже ($p < 0,01$) демонстрировали выраженную способность к БПО (31,3%). Межвидовой анализ характера распределения стафилококков по способности к БПО и источнику выделения показал, что штаммы *S. epidermidis*, выделенные из аспириатов ($p < 0,01$) и с ортопедических конструкций чаще изолятов *S. aureus* характеризуются выраженной способностью к БПО.

Проведенное исследование влияния сывороточных концентраций антибиотиков, обладающих антистафилококковой активностью, показало, что при монотерапии MRSA-ассоциированных инфекций протезированного сустава создаваемые в сыворотке крови концентрации антибиотиков не гарантируют 100% бактериологической эффективности. Следовательно, в клинической практике это приводит к тому, что антимикробные препараты, активные в отношении планктонных бактерий, не обеспечивают эрадикации возбудителя у пациентов с инфицированными эндопротезами и остеомиелитом, что требует разработки новых подходов к лечению таких инфекций. Нами была изучена эффективность антибиотиков, в различной степени активных в отношении MRSA, в комбинации с моксифлоксацином. Даптомицин и фосфомицин в комбинации с указанным фторхинолоном продемонстрировали наибольшую эффективность в отношении сессильных 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 терапии перипротезной инфекции, вызванной метициллинорезистентными штаммами стафилококков.

ГЛАВА 5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СПОСОБОВ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛОКАЛЬНОЙ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

В главе представлены результаты экспериментов *in vitro* по разработке способа преодоления резистентности стафилококков, на основе которых в эксперименте *in vivo* изучалась возможность предотвращения развития инфекции при установке инфицированного имплантата на фоне локального применения полимерной антимикробной композиции. Также представлены результаты экспериментов *in vivo* по изучению динамики патоморфологических изменений при моделировании имплантат-ассоциированной инфекции, обусловленной *S. epidermidis*, и изучению возможности лечения данной патологии хирургическим способом с применением только локальной АБТ. В заключительном разделе главы приведены результаты эксперимента *in vitro* по разработке способа увеличения продолжительности антимикробного действия костного цемента.

5.1. Преодоление резистентности у штаммов *S. aureus* путем применения субтерапевтических концентраций антимикробных препаратов в эксперименте *in vitro*

Как известно, синергизм – это усиление бактерицидного действия антибиотиков при их совместном применении. Примером может служить сочетание препаратов, препятствующих синтезу клеточной стенки, и аминогликозидов, когда подавление синтеза клеточной стенки облегчает проникновение аминогликозида в бактериальные клетки и приводит к быстрой гибели бактерий. Гентамицин, препарат группы аминогликозидов, в отношении стафилококков обладает бактерицидным действием, однако метициллинорезистентные штаммы часто характеризуются ассоциативной устойчивостью к данному антибиотику. Согласно приведенным в главе 3 данным

резистентность штаммов MRSA в 2007–2014 гг. колебалась от 55,6 до 83,7%, MRSE – от 47,8 до 82,9%. Механизм действия гентамицина связан с ингибированием рибосомальных субъединиц 30S. Нами было сделано предположение, что комбинация гентамицина с диоксидином – препаратом с бактерицидным типом действия, в основе механизма действия которого лежит повреждение биосинтеза ДНК микробной клетки с глубокими нарушениями структуры нуклеоида уже при действии субингибирующих концентраций, может быть активна в отношении штаммов *S. aureus*, устойчивых к метициллину и гентамицину.

Для подтверждения синергидного взаимодействия субклинических концентраций антибактериальных препаратов в отношении штаммов *S. aureus*, были проведены *in vitro* эксперименты по определению антимикробного действия комбинаций гентамицина с диоксидином в различных концентрациях в отношении метициллино-устойчивых и чувствительных изолятов с охарактеризованной устойчивостью к гентамицину. Эксперимент провели на 4-х штаммах: референсные штаммы MSSA ATCC 25923 и ATCC 6538, демонстрирующие резистентность к гентамицину клинические изоляты MRSA 8074 и 8785, выделенные от пациентов с документированной ППИ после эндопротезирования тазобедренного сустава.

В соответствии с результатами, представленными в таблицах 5.1–5.4 для тестируемых штаммов *S. aureus* по формуле 2.1 были рассчитаны коэффициенты FIC (fractional inhibitory index), которые во всех случаях были менее 0,5, что свидетельствует о наличии синергидного действия тестируемых препаратов в отношении не только метициллиночувствительных, но и метициллинорезистентных штаммов стафилококков (табл. 5.5). На основе значений FIC (fractional inhibitory concentrations), также рассчитанных на основе результатов экспериментов, была построена изоболограмма (рис. 5.1), вогнутый характер которой также свидетельствует в пользу синергидного взаимодействия гентамицина и диоксицина.

Таблица 5.1

Схема 96-луночного микропланшета для оценки эффекта комбинации двух антимикробных агентов методом «шахматной доски» в отношении культуры клинического штамма MRSA 8074 с полученными результатами

← Гентамицин мкг/мл			1	2	3	4	5	6	7	8		9	10	11	12
	A	2400	-	-	-	-	-	-	-	-	18,8	-	-	-	-
	B	1200	-	-	-	-	-	-	-	-	9,4	-	-	-	-
	C	600	-	-	-	-	-	-	-	-	4,8	-	-	-	-
	D	300	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+	+	+	+
	E	150	-	-	-	-	-	-	-	-	2,4	+	+-	-	-
	F	75,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	+	+	-	-
	G	37,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	+	+	+	-
	H	0	+	+	+	-	-	-	-	-	0	+	+	+	+
			0	39	78	156	312	625	1250	2500		0	0,61	1,22	2,44
← Диоксидин (мкг/мл)															

Условные обозначения (здесь и далее): «+» – рост тест-культуры в лунке;

«-» – отсутствие видимого роста.

Таблица 5.2

Схема 96-луночного микропланшета для оценки эффекта комбинации двух антимикробных агентов методом «шахматной доски» в отношении культуры клинического штамма MRSA 8785 с полученными результатами

← Гентамицин мкг/мл			1	2	3	4	5	6	7	8		9	10	11	12
	A	2400	-	-	-	-	-	-	-	-	18,8	-	-	-	-
	B	1200	-	-	-	-	-	-	-	-	9,4	-	-	-	-
	C	600	-	-	-	-	-	-	-	-	4,7	-	-	-	-
												0	4,9	9,8	19,6
	E	150	-	-	-	-	-	-	-	-	2,4	+	-	-	-
	F	75,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	+	+	-	-
	G	37,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	+	+	+	-
	H	0	+	+	+	-	-	-	-	-	0	+	+	+	+
			0	39	78	156	312	625	1250	2500		0	0,61	1,22	2,44
← Диоксидин (мкг/мл)															

Таблица 5.3

Схема 96-луночного микропланшета для оценки эффекта комбинации двух антимикробных агентов методом «шахматной доски» в отношении культуры референс-штамма MSSA ATCC25923 с полученными результатами

Гентамицин мкг/мл ↓			1	2	3	4	5	6	7	8		9	10	11	12
	A	3,76	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0293	-	-	-	-
	B	1,88	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0147	-	-	-	-
	C	0,94	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0073	+	-	-	-
	D	0,47	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+	+	+	+
												0	4,9	9,8	19,6
	E	0,234	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0037	+	+	-	-
	F	0,117	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0018	+	+	-	-
	G	0,059	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0009	+	+	+	-
	H	0	+	-	-	-	-	-	-	-	0	+	+	+	+
		0	39	78	156	312	625	1250	2500		0	0,61	1,22	2,44	
← Диоксидин (мкг/мл)															

Таблица 5.4

Схема 96-луночного микропланшета для оценки эффекта комбинации двух антимикробных агентов методом «шахматной доски» в отношении культуры референс-штамма MSSA ATCC6538 с полученными результатами

Гентамицин мкг/мл ↓			1	2	3	4	5	6	7	8		9	10	11	12
	A	3,76	-	-	-	-	-	-	-	-	0,029	-	-	-	-
	B	1,88	-	-	-	-	-	-	-	-	0,015	-	-	-	-
	C	0,94	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0074	+	-	-	-
	D	0,47	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+	+	+	+
												0	4,9	9,8	19,6
	E	0,234	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0037	+	-	-	-
	F	0,117	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0018	+	+	+	-
	G	0,059	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0009	+	+	+	-
	H	0	+	-	-	-	-	-	-	-	0	+	+	+	+
		0	39	78	156	312	625	1250	2500		0	0,61	1,22	2,44	
← Диоксидин (мкг/мл)															

Значения МИК (мкг/мл) и рассчитанные показатели FIC и индекс FIC для тестируемых штаммов (данные двух параллельных экспериментов)

Штаммы	Гентамицин			Диоксидин			FIC
	МИК	МИК для комбинации	FIC	МИК	МИК для комбинации	FIC	
MRSA 8074							
Опыт 1	4,8	1,2	0,25	156	1,22	0,007	0,26
Опыт 2	4,8	1,2	0,25	156	2,44	0,016	0,27
MRSA 8785							
Опыт 1	4,8	1,2	0,25	156	0,61	0,004	0,25
Опыт 2	4,8	1,2	0,25	156	2,44	0,016	0,27
MSSA ATCC 25923							
Опыт 1	0,029	0,0009	0,031	39	2,44	0,062	0,09
Опыт 2	0,015	0,0005	0,034	39	2,44	0,062	0,10
MSSA ATCC 6538							
Опыт 1	0,029	0,0037	0,127	39,06	0,61	0,016	0,14
Опыт 2	0,015	0,0009	0,06	39,06	2,44	0,062	0,12

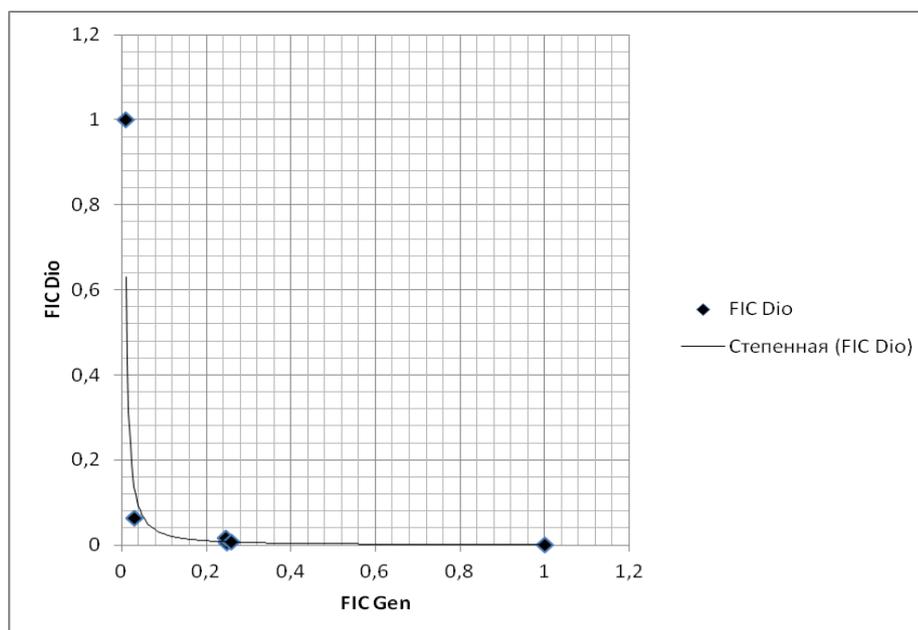


Рисунок 5.1. Изоболограмма для тестируемых штаммов *S. aureus*, построенная по результатам оценки действия комбинации антимикробных препаратов гентамицина и диоксидина методом «шахматной доски»

Исследование синергизма антибактериальных препаратов методом кинетических кривых гибели/роста бактерий показало аналогичные результаты для всех тестируемых штаммов. Далее приводятся результаты оценки антимикробного действия исследуемых лекарственных средств в отношении клинического штамма MRSA 8785.

Согласно результатам, представленным в таблице 5.6, комбинация гентамицина и диоксицина в субингибирующих концентрациях 1,25 мкг/мл и 2,5 мкг/мл, соответственно, демонстрирует синергизм в отношении штамма MRSA 8785, резистентного и к гентамицину; синергизм подтверждается также кинетикой гибели тест-штамма под влиянием действия комбинации гентамицина и диоксицина в концентрациях 1,25 и 2,5 мкг/мл, соответственно, что отражается в характере кривой «1Г+1Д» на рисунке 5.2. На момент времени 24 ч под действием указанной комбинации, продемонстрировано снижение КОЕ на 2,5 lg при сравнении с индивидуальным наиболее активным антимикробным компонентом – диоксицином в концентрации 2,5 мкг/мл, и более чем 100-кратное снижение КОЕ в сравнении с начальным инокулюмом.

Таблица 5.6

Результаты определения микробного числа (lg КОЕ/мл) *S. aureus* (на примере клинического штамма MRSA 8785)

Время (ч)	Конт- роль роста	Ген 1МИК	Ген ¼МИК	Дио 1МИК	Дио ¼МИК	Ген	Ген	Ген	Ген
						1МИК + Дио	¼МИК + Дио	¼МИК + Дио	1МИК + Дио
0	5,8	6,0	6,2	5,9	6,0	5,9	5,7	5,1	5,8
2	6,4	6,5	6,5	6,6	6,6	6,4	6,4	6,4	6,4
6	8,1	7,5	8,0	6,9	7,1	5,7	7,8	7,8	7,9
24	8,3	8,0	8,1	6,0	7,9	3,5	8,0	7,3	8,1

Дио – диоксицин;

Ген – гентамицин;

МИК диоксицина – 2,5 мкг/мл; МИК гентамицина – 1,25 мкг/мл.

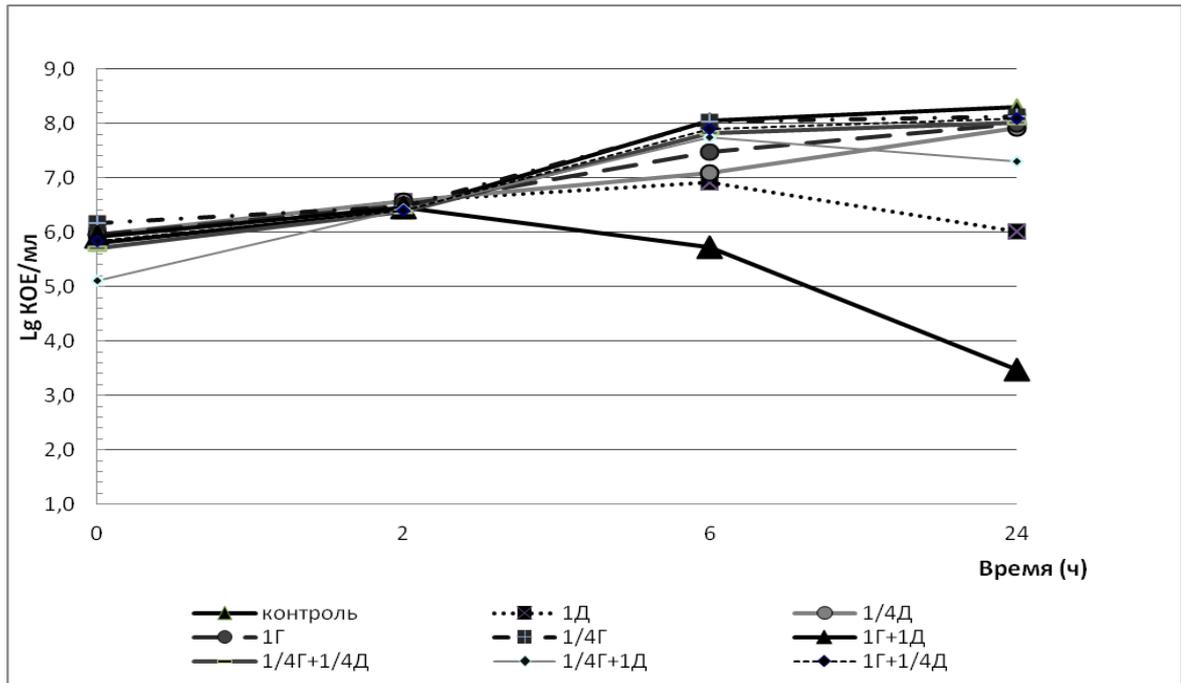


Рисунок 5.2. Графическое изображение синергизма субингибирующих концентраций гентамицина и диоксицина в отношении клинического метициллинорезистентного штамма *S. aureus* 8785

5.2. Динамика клиничко-морфологических изменений при развитии имплантат-ассоциированной инфекции, обусловленной *S. epidermidis*, в экспериментальной модели *in vivo*

Опыты были выполнены на 30 крысах (самцах) породы Wistar, массой 200–250 г. Содержание и использование лабораторных животных соответствовало правилам ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» и рекомендациям Национального Совета по исследованиям и национальным законам. Моделирование ИАИ осуществляли посредством двухэтапного оперативного вмешательства. Каждый этап проводили под внутривенным наркозом в асептических условиях. Характеристика штамма возбудителя, подготовка инфицированных имплантатов, условия содержания животных и ход оперативного вмешательства подробно изложены в разделах 2.2 и 2.8.1 главы 2.

После обработки операционного поля у наркотизированных животных фиксировали левую заднюю конечность. Выполняли послойный разрез в области надмышечка бедренной кости. На первом этапе через межмышечковое углубление бедренной кости спицей Киршнера диаметром 1,2 мм перфорировали костномозговой канал и расширяли его путем введения спицы большего диаметра (от 1,4 до 2,0 мм). Затем животным опытной группы (n=15) в костномозговой канал вносили 0,5 мл микробной взвеси суточной культуры *S. epidermidis* 10⁶ КОЕ/мл, устанавливали инфицированную спицу Киршнера, выступающий край которой с целью фиксации загибали к мышечку. Далее обрабатывали послеоперационную рану антисептиком и накладывали 1 адаптационный шов (Монамит 2-0). Повязку не накладывали. Животным контрольной группы (n=15) имплантировали стерильную спицу в костномозговой канал бедренной кости аналогичным образом, но не вводили микробную взвесь.

Второй этап оперативного вмешательства выполняли на 14-е сутки после первого. Наркотизированным животным обеих групп в асептических условиях производили разрез 0,7–1,0 см в области мышечка большеберцовой кости, остро и тупо выделяли металлоконструкции (направляли для микробиологического исследования). Животным опытной группы дополнительно выполняли санацию гнойного очага. После промывания канала бедренной кости 0,5% раствором хлоргексидина, образовавшийся костный дефект в проксимальном отделе кости замещали блоковидным спейсером, изготовленным из костного цемента с гентамицином (CMW1 Gentamicin, DePuy), размером 0,2x1,2 см. Далее обрабатывали послеоперационную рану антисептиком и накладывали два адаптационных шва (Монамит 2-0). Через сутки после установки металлоконструкции у всех оперированных животных отмечали беспокойство, уменьшение потребления воды и корма, гипертермию в области проведения хирургического вмешательства и отек тканей в области бедра и коленного сустава. К 7-м суткам показатели массы тела животных опытной группы снизились в среднем на 18%, в то время как в контрольной группе – на 12% (p<0,05) (табл. 5.7).

Клинические показатели состояния экспериментальных животных

Показатель	Сутки	Кол-во	Группа	
			контрольная, Me (IQR)	опытная, Me (IQR)
Масса тела, г	исх.	15	241 (238–252)	245 (238,0–257,0)
	7	15	213 (210,0–218)	202* (197–214)
	14	10	222 (218–228)	192** (187–202)
	28	5	214 (213–228)	171* (168–179)
Объем оперированного бедра, см	исх.	15	1,2 (1,2–1,3)	1,2 (1,2–1,3)
	7	15	1,4 (1,3–1,5)	1,5 (1,4–1,5)
	14	10	1,3 (1,2–1,3)	1,6** (1,6–1,7)
	28	5	1,3 (1,3–1,3)	1,6* (1,6–1,7)
Температура ректальная, °С	исх.	15	37,5 (37,4–37,8)	37,6 (37,4–37,8)
	7	15	37,9 (37,6–38,1)	38,6** (38,3–38,7)
	14	10	37,4 (37,2–37,5)	38,8** (38,7–39,1)
	28	5	37,6 (37,4–37,8)	38,8* (38,7–38,9)

Здесь и далее: исх. – до операции; * – отличается от контрольной группы $p < 0,05$

** – отличается от контрольной группы $p < 0,01$;

213 – отличается от исходного уровня $p < 0,05$

Потеря массы тела от исходной у опытных животных к 28 дню составила 30,2%, в то время как в контрольной группе дефицит чуть превышал 10%. Кроме того, у животных опытной группы в течение всего периода мониторинга значительно повышалась ректальная температура и определялся отек оперированного бедра.

Лабораторно в контрольной группе на 7-е сутки после первого этапа отмечали умеренный нейтрофильный лейкоцитоз (табл. 5.8), в опытной – выраженный нейтрофильный лейкоцитоз наблюдался весь период исследования, достигая максимума ко 2 этапу вмешательства: содержание лейкоцитов на 14-е сутки почти в 2 раза превышало исходный уровень ($p < 0,05$).

Лабораторные показатели состояния экспериментальных животных

Показатели	Сутки	Кол-во	Группы, Ме (25–75% IQR)	
			контрольная	опытная
Лейкоциты, 10^9 г/л	исх.	15	9,8 (8,4–10,9)	9,1 (8,7–10,2)
	7	15	12,0 (11,5–12,9)	15,2** (13,8–16,3)
	14	10	10,2 (9,7–10,5)	18,7** (16,1–24,9)
	28	5	9,5 (8,6–9,6)	17,6* (16,7–19,3)
Нейтрофилы, %	исх.	15	11,0 (10,0–12,0)	11,0 (10,0–12,0)
	7	15	15,0 (14,0–16,0)	19,0** (17,0–21,0)
	14	10	11,0 (10,0–12,0)	21,5** (19,0–36,0)
	28	5	12,0 (11,0–13,0)	18,0* (18,0–19,0)
Лимфоциты, %	исх.	15	72,0 (71,0–75,0)	72,0 (72,0–74,0)
	7	15	68,0 (67,0–69,0)	64,0** (62,0–66,0)
	14	10	71,0 (69,0–72,0)	59,5** (45,0–62,0)
	28	5	71,0 (71,0–73,0)	63,0* (62,0–63,0)

У животных опытной группы макроскопически наблюдаемая динамика изменений со стороны послеоперационной раны свидетельствовала о развитии выраженного инфекционно-воспалительного процесса уже в раннем послеоперационном периоде: на 7-е сутки в области хирургического вмешательства обнаружены участки деструкции кожи и признаки нагноения в мышечном слое, к 14-м суткам отек нарастал, в области установки спиц прогрессировали явления гнойного воспаления и обнаруживались признаки формирования свищей. У двух животных на оперированной конечности определялись участки гнойного размягчения с флуктуацией, а удаленные металлоконструкции были покрыты серозно-гнойным слизистым налетом. На 28 сутки от начала опыта в области оперированного сустава и прилежащих мышц обнаружены многочисленные полости, заполненные сформированными

плотными гнойными массами, деструкция костной ткани, формирующей костномозговой канал – признаки, свидетельствующие о развитии остеомиелита бедренной кости в области установки имплантата. У животных контрольной группы отек оперированной конечности без признаков абсцедирования в области установки имплантата сохранялся не более 7 суток, а к 14 суткам стихали клинические симптомы воспаления, удаленные спицы макроскопически выглядели без налета и гноя. На 28 сутки в контрольной группе животных воспалительные изменения оперированной конечности практически отсутствовали, цементный спейсер находился в месте введения.

В результате бактериологических исследований образцов патологических тканей и удаленных фрагментов спиц, отобранных в указанные сроки, в контрольной группе животных выявлено только два случая микробного загрязнения проб кожи и мышц посторонними микроорганизмами: в 4 из 65 исследуемых культур наблюдался рост микроорганизмов *Enterobacter* spp. или *Streptococcus* spp. В подавляющем большинстве случаев бактериальная культура из взятых образцов тканей животных из контрольной группы была отрицательной. В опытной группе крыс практически во все указанные сроки наблюдения бактериологические посева взятых образцов различных тканей и удаленных имплантатов (51 из 65) выявляли микробный рост. Идентификация выделенных микроорганизмов указывала на то, что изоляты являются штаммами *S. epidermidis*. Антибиотикограммы выделенных штаммов и клинического штамма *S. epidermidis* 1341/12 полностью совпадали, что косвенно указывало на идентичность штаммов.

На 7 сутки эксперимента в микропрепаратах у животных контрольной группы отмечались признаки асептического реактивного воспаления в зоне внедрения спицы и окружающих тканях: нарушена структура кроветворного костного мозга, костномозговой канал заполнен воспалительным инфильтратом, представленным сегментоядерными лейкоцитами, макрофагами, гистиоцитами с примесью лимфоцитов и плазмоцитов (рис. 5.5 А). В тоже время в костномозговом канале животных опытной группы отмечались признаки гнойного воспаления с обильной лейкоцитарной инфильтрацией. Костный мозг

замещался воспалительным инфильтратом, в котором преобладали лейкоциты и макрофаги. В кортикальной пластинке в месте внедрения спицы зафиксированы явления остеолита (рис. 5.5 Б).

К 14-м суткам после введения неинфицированного имплантата в костномозговой канал бедренной кости крыс выявлена смена острой фазы асептического воспаления на продуктивную – среди клеток воспалительного инфильтрата определялись фибробласты, лимфоциты и плазмоциты. Макрофаги сменялись гистиоцитами. В костной ткани в месте введения спицы отмечалось увеличение зоны некробиоза, были выражены явления остеогенеза — на периостальной стороне кортикальной пластинки формирование волокнистой губчатой кости (рис. 5.6 А). Таким образом, происходящие в результате повреждения костномозговой центральной артерии некробиотические изменения эндостальной поверхности кортикальной пластинки также к 14-м суткам сменились явлениями остеогенеза. Несмотря на повторное оперативное вмешательство в объеме удаления спицы и установки цементного спейсера с гентамицином, к концу второй недели после ревизионной операции также начиналось восстановление структуры кроветворного костного мозга и формирование молодой костной ткани в свободной от спейсера области.

Имплантация инфицированной спицы приводила к 14-суткам к выраженным проявлениям гнойного воспаления с замещением костного мозга в костномозговом канале клеточным инфильтратом со сплошной лейкоцитарной инфильтрацией, формированием микроабсцессов (рис. 5.6 Б). Кроме того, в костной кортикальной пластинке определялись явные признаки некроза – гибель остеоцитов с обилием пустых клеточных лакун и расширение гаверсовых каналов (рис. 5.6В). В костномозговом канале отмечено наличие секвестров (рис. 5.6 Г)

Через 2 недели после ревизионной операции с удалением имплантата и установкой цементного спейсера в контрольной группе наблюдалось восстановление обычного строения кроветворного костного мозга на участках вне зоны установленного спейсера (рис. 5.7 А). В кортикальной пластинке со стороны эндоста местами сохранялись расширенные гаверсовы каналы, наряду с этим

имелись признаки регенерации и перестройки костной ткани с наличием участков молодой волокнистой кости и ярких линий склеивания, крупных остеоцитов в лакунах. В опытной группе в костномозговом канале местами отмечалось формирование грануляционной ткани со смешанной клеточной воспалительной инфильтрацией (рис. 5.7 Б.) и образованием микроабсцессов (рис. 5.7 В).

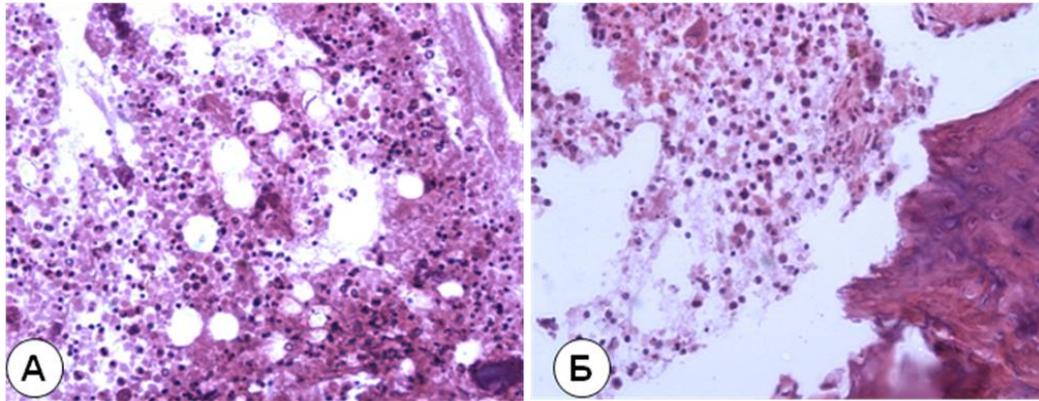


Рисунок 5.5. Микрофото среза костномозгового канала. 7 суток после установки спицы Киршнера (окраска гематоксилин-эозином. Ув. х 400)

А – контрольная группа: стирание рисунка костного мозга, воспалительная инфильтрация;

Б – опытная группа: слева воспалительная инфильтрация, справа некроз и остеолиз эндостальной поверхности кости.

Несмотря на выполненную санацию гнойного очага и установку антимикробного спейсера кортикальная пластинка была резко истончена и фрагментирована из-за лизиса костной ткани воспалительным инфильтратом, в особенности, протеолитическими ферментами лейкоцитов. Среди клеток воспалительного инфильтрата располагались отдельные костные секвестры. В окружающих мышцах и волокнистой ткани сохранялась смешанная воспалительная клеточная инфильтрация на фоне хронического воспаления (рис. 5.7 Г.).

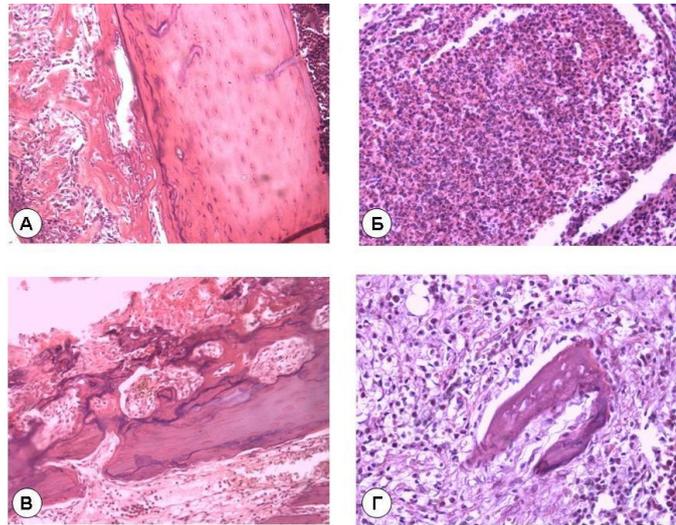


Рисунок 5.6. Микрофото среза бедренной кости. 14 суток после установки спицы Киршнера животным контрольной (А) и опытной групп (Б, В, Г) (окраска та же. Ув. х 400)

- А – остеогенез – слева,
- Б – микроабсцессы в костномозговой ткани;
- В – некроз кортикальной пластинки на фоне воспалительной инфильтрации;
- Г – костные секвестры в костномозговом канале.

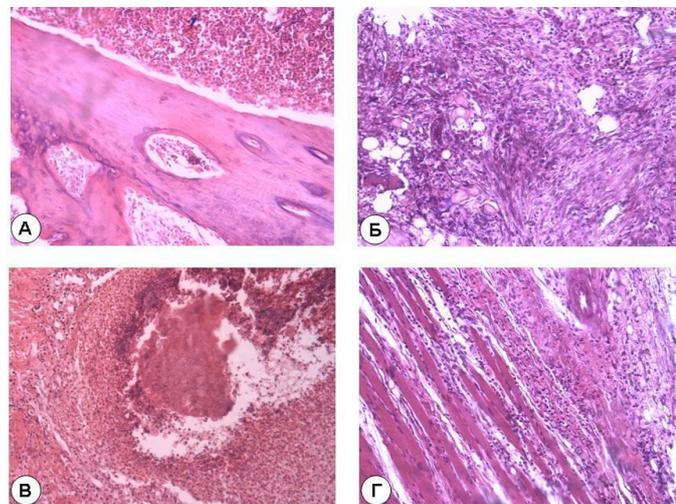


Рисунок 5.7. Микрофото среза бедренной кости. 28 суток от начала опыта, 14 суток после удаления спицы и установки цементного спейсера у животных контрольной (А) и опытной (Б, В, Г) групп (окраска та же. Ув. х 400)

- А – восстановление структуры костного мозга;
- Б – фиброзирование ткани костного мозга с воспалительной инфильтрацией;
- В – микроабсцессы среди воспалительного инфильтрата;
- Г – воспалительные изменения в прилежащей мышечной ткани, воспалительная инфильтрация в эндомизии в виде острого гнойного воспаления с хронизацией процесса.

Таким образом, введение инфицированного имплантата привело к выраженным морфологическим изменениям в окружающих тканях. К концу 4 недели после инфицирования, несмотря на санацию гнойного очага с удалением инфицированной спицы, промыванием раны хлоргексидином и установкой антимикробного спейсера с гентамицином, у животных опытной группы развился остеомиелит с рассасыванием кортикальной пластинки и образованием многочисленных костных секвестров. Выраженные клиничко-лабораторные и патоморфологические 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.

5.3. Эффективность профилактики имплантат-ассоциированной инфекции при локальном использовании разработанной антимикробной композиции в эксперименте *in vivo*

На основании результатов исследования, описанных в разделе (п. 5.2), для локального интраоперационного применения нами была предложена антимикробная композиция на основе среднемолекулярного коллидона, содержащая комбинацию гентамицина и диоксидина 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 эксперименте проводили на 25 кроликах обоих полов породы Шиншилла массой 3–3,5 кг, которым выполняли операцию по имплантации спицы Киршнера в костномозговой канал

бедренной кости. Содержание и использование лабораторных животных соответствовало правилам ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» и рекомендациям Национального Совета по исследованиям и национальным законам. Характеристика штамма возбудителя, подготовка инфицированных имплантатов, условия содержания животных и ход оперативного вмешательства подробно изложены в разделах 2.2 и 2.8.2 главы 2.

Животным I (основной) группы (n=9) под внутривенным кетаминным наркозом в асептических условиях фиксировали заднюю конечность. Продольным разрезом обнажали бедренную кость. Через вертел бедренной кости при помощи дрели и металлического сверла перфорировали костномозговой канал, в полость канала вводили 0,5 мл микробной взвеси и орошали рану 1,5 мл микробной взвеси, после чего через 1–2 минуты устанавливали инфицированную ранее спицу Киршнера длиной 30 мм и диаметром 2,5 мм, предварительно обработав ее антимикробной полимерной композицией, дополнительно из шприца орошали композицией мягкие ткани в области раны, после чего рану ушивали и обрабатывали раствором йода.

Животным II группы (n=8) также моделировали имплантат-ассоциированную инфекцию, но 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) также моделировали имплантат-ассоциированную инфекцию (по приведенной выше схеме), но не проводили профилактику дооперационным введением цефтриаксона или интраоперационным введением антимикробной композиции.

В послеоперационном периоде не было установлено существенной разницы в температурной реакции у животных разных групп. При этом у животных контрольной группы отмечено значительное снижение массы тела ($p < 0,05$) к 14-м суткам по сравнению с исходной (табл. 5.9). Оценка местных признаков воспаления показала, что у всех животных в послеоперационном периоде в разной степени имели место отек оперируемой конечности, гиперемия и

гипертермия в области послеоперационного шва, однако в I и II группах эти явления были полностью купированы к 5-м суткам, а у животных контрольной группы сохранялись до конца срока наблюдения, кроме того, у двух животных контрольной группы к 14-м суткам на фоне инфильтративных изменений сформировались участки абсцедирования.

Таблица 5.9

Динамика клинических показателей у животных с экспериментальной имплантат-ассоциированной инфекцией в раннем послеоперационном периоде

Показатель	Сутки	Кол-во	Группа, Ме (25–75% IQR)		
			I	II	III
Температура ректальная, °С	Исх.	9	38,7 (36,8–39,1)	38,7 (37,3–40,1)	38,6 (37,1–39,9)
	5	9	38,7 (37,4–39,8)	38,9 (37,8–41,6)	39,2 (38,4–42,1)
	7	6	38,5 (37,0–40,2)	39,0 (37,5–40,5)	39,0 (37,2–41,8)
	14	3	38,6 (37,1–39,4)	38,9 (37,3–39,4)	38,9 (37,8–40,3)
Масса тела, г	Исх.	8	3300 (2877–3312)	3275 (3185–3385)	3250 (3165–3337)
	5	8	3220 (3113–3287)	3020 (2945–3095)	3130 (3032–3237)
	7	6	3250 (3114–3286)	2870 (2585–3055)	2850 (2528–2986)
	14	3	3370 (3250–3420)	3135 (3052–3217)	2675 (2552–1934)
Объем оперированного бедра, см	Исх.	8	25 (23,8–25,9)	24,4 (23,3–25,4)	24,9 (23,5–26,2)
	5	8	26,2 (24,3–27,1)	25,8 (24,8–26,8)	27,9 (26,8–28,9)
	7	6	25,5 (24,6–26,4)	25,6 (24,7–26,5)	28,9 (27,8–29,9)
	14	3	25,2 (24,4–26,0)	25,5 (24,6–26,6)	29,1* (28,1–30,1)

* – значительно отличается от их исходного уровня, (p<0,05)

Анализ лабораторных показателей продемонстрировал (табл. 5.10), что у животных I и II групп количество лейкоцитов и уровень СРБ к 14 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, а в I группе, которой вводили полимерную композицию, количество нейтрофилов возвращалось к исходному. У кроликов контрольной группы проявления инфекционно-воспалительного процесса были более выраженными во все сроки наблюдения: на 7-е и 14-е сутки уровень лейкоцитоза был существенно выше, чем в обеих группах сопоставления, кроме того, количество нейтрофилов на 14-е сутки было значимо больше, чем в группе животных, которым вводили антибактериальную полимерную композицию (табл. 5.10).

Таблица 5.10

Динамика клинико-биохимических показателей у животных с экспериментальной имплантат-ассоциированной инфекцией в раннем послеоперационном периоде

Показатели крови	сут.	n	Группа, Ме (25-75% IQR)		
			I	II	III
Лейкоциты, 10^9 /л	Исх.	9	10,3 (8,6–11,8)	10,2 (7,9–12,1)	11,2 (9,1–12,0)
	7	7	11,1 ³ (10,2–12,1)	13,2* ² (10,7–14,4)	16,3* (13,9–18,7)
	14	5	9,9 ³ (9,2–13,1)	11,8 ³ (10,2–12,7)	16,8* (1,7–18,4)
Нейтрофилы, 10^9 /л	Исх.	8	4,5 (4,1–6,2)	4,5 (2,7–5,3)	4,8 (3,5–6,2)
	7	6	5,5 (2,7–6,5)	5,9 (4,4–11,5)	7,3 (4,9–9,7)
	14	4	4,2 ³ (3,6–5,9)	6,6 (4,6–9,8)	8,9* (5,3–9,6)
СРБ, мг/л	Исх.	8	0,17 (0,1–0,29)	0,22 (0,17–0,37)	0,2 (0,04–0,36)
	7	6	0,21 ² (0,14–0,35)	0,32 (0,25–0,38)	1,1* (0,31–1,56)
	14	4	0,12 ³ (0,1–0,21)	0,17 ³ (0,16–0,42)	1,26* (0,69–1,63)

* – значимо отличается от их исходного уровня, ($p < 0,05$)

² – отличается от аналогичного в III группе ($p < 0,05$)

³ – отличается от аналогичного в III группе ($p < 0,01$)

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 по сравнению с контролем (3,34–4,52).

В результате применения антимикробной композиции ткани, в области хирургического вмешательства, приобрели и сохранили антимикробные свойства до 14 суток (табл. 5.11), 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 аналогичных показателей при использовании системного введения антибиотика (0 мм) и по сравнению с контрольной группой (0 мм).

Эффективность предлагаемого способа подтвердили также результаты бактериологического исследования удаленных спиц, после обработки ультразвуком. Микробная обсемененность удаленных имплантатов в основной группе составила 0–2,4 КОЕ/см² поверхности, в отличие от аналогичных показателей 1,2–7,3 КОЕ/см² при использовании способа сравнения и в отличие от 13,9–408,2 КОЕ/см² в контрольной группе.

Таким образом, анализ представленных данных показывает, что интраоперационное локальное применение антимикробной композиции гентамицина и диоксидина при ортопедических операциях позволяет предупредить развитие имплантат-ассоциированной инфекции в послеоперационном периоде, что проявляется ранней нормализацией клинических и клинико-лабораторных показателей и подтверждается результатами бактериологических исследований.

Таблица 5.11

Результаты бактериологического исследования тканевых биоптатов и удаленных спиц Киршнера на 14 сутки после установки имплантата экспериментальным животным

Группа животных	№ кролика	Микробная обсемененность штаммом <i>S. aureus</i>			Антимикробная активность мышечной ткани
		удаленного имплантата	мышечной ткани		
		КОЕ/см ²	КОЕ/г	LgКОЕ/г	Зона задержки роста <i>S. aureus</i> (мм)
I группа	96	0	0	0,00	9/7/9
	116	0	0	0,00	10/12/6
	115	2,4	2,0	0,30	30/13/12
	125	1,2	3,0	0,48	8/10/6
	124	0	0,3	0,00	7/13/10
II группа	123	1,2	1,53	0,19	0/0/0
	122	7,3	$8,60 \cdot 10^1$	1,93	0/0/0
	118	3,3	9,33	0,97	0/0/0
	117	2,4	4,33	0,64	0/0/0
III группа	127	13,9	$2,61 \cdot 10^3$	3,42	0/0/0
	126	22,9	$3,27 \cdot 10^4$	4,51	0/0/0
	97	19,6	$2,20 \cdot 10^3$	3,34	0/0/0
	98	408,2	$3,30 \cdot 10^4$	4,52	0/0/0

5.4. Антимикробная активность образцов импрегнированного антибиотиками костного цемента в эксперименте *in vitro*

Изучили продолжительность антимикробной активности 5 групп импрегнированных антибиотиками костного цемента. Контрольные образцы содержали 4,22 масс.% гентамицина, в опытные – вносили дополнительно на 20 г сухого вещества ванкомицин – 1 г (5 масс.%) и 2 г (10 масс.%) или фосфомицин 2 г (10 масс.%) и 4 г (20 масс.%).

Наименьшая продолжительность антимикробной активности установлена у контрольных образцов гентамицин-содержащего костного цемента без добавления дополнительного антибиотика (рис. 5.9): 2 суток в отношении MSSA и грамотрицательных бактерий (*E. coli* и *K. pneumoniae*), 1 сутки в отношении MRSA.

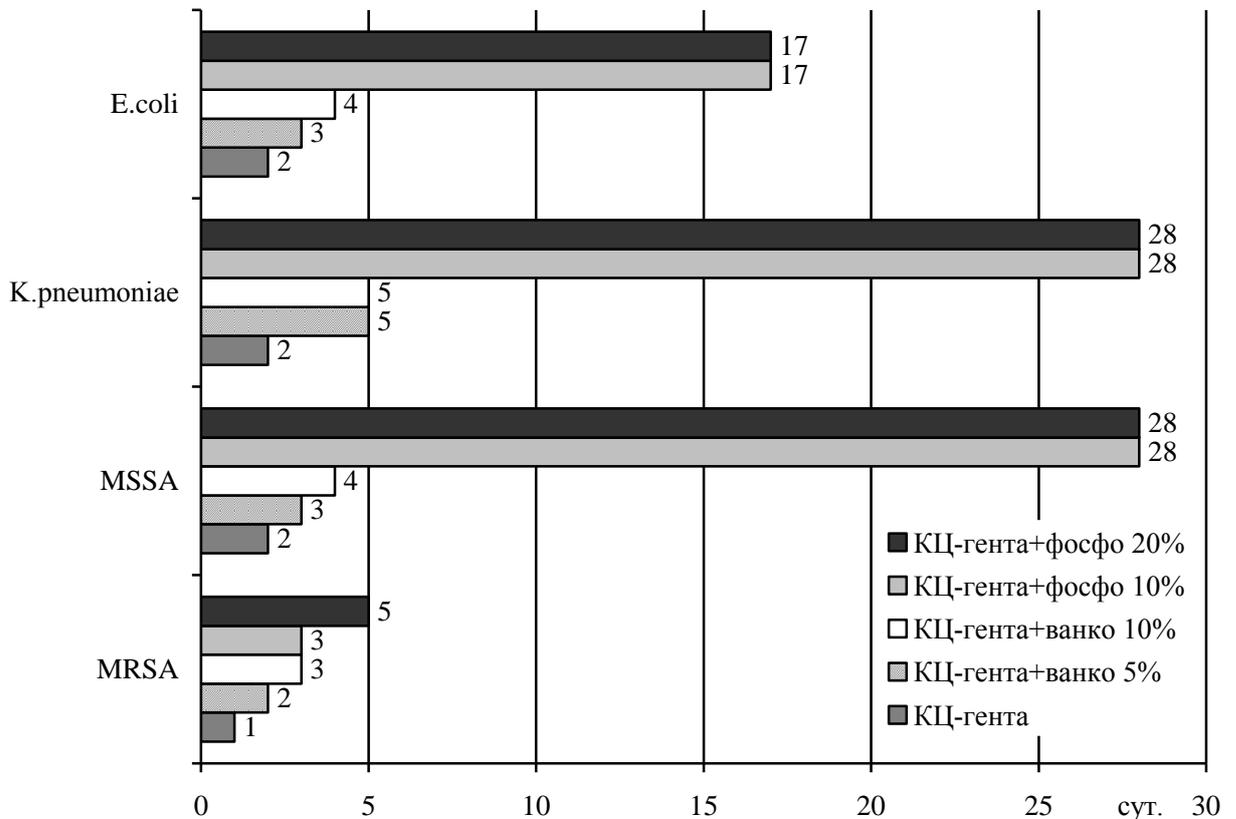


Рисунок 5.9. Продолжительность антимикробного действия образцов гентамицин-содержащего костного цемента (КЦ-гента) с добавлением ванкомицина (ванко) или фосфомицина (фосфо) в различных концентрациях

Образцы, дополнительно содержащие 5% ванкомицина, проявляли антимикробную активность в отношении штаммов MRSA и *E. coli* в течение 2 суток, в отношении штаммов MSSA и *K. pneumoniae* в течение 3 и 5 суток, соответственно. Увеличение концентрации ванкомицина в 2 раза (10%) приводило к продлению антимикробной активности тестируемых образцов еще на 1 сутки в отношении MRSA, MSSA и *E. coli*, и не изменяло продолжительность действия на *K. pneumoniae*. Наибольшая продолжительность 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, готовый гентамицин-содержащий костный цемент в модели *in vitro* продемонстрировал крайне непродолжительную активность в отношении тестируемых штаммов. Добавление фосфомицина в цемент было более эффективным в сравнении с ванкомицином, в особенности, в отношении грамотрицательных возбудителей. Удвоение концентраций дополнительных антибиотиков не позволило значительно увеличить длительность антимикробного действия тестируемых образцов. Максимальную продолжительность антимикробной активности в отношении MRSA продемонстрировали образцы, содержащие 4 г (20 масс.%) фосфомицина – 5 суток.

5.5. Резюме

В результате серий экспериментов по изучению возможностей преодоления резистентности у штаммов стафилококков (раздел 5.1 данной главы) установлено усиление действия гентамицина с помощью разрешенного для системного использования химиопрепарата диоксидин, который нарушает синтез ДНК микробной клетки, что обеспечило потенцирование бактерицидного эффекта гентамицина в отношении метициллинорезистентных штаммов стафилококков. В результате нами предложен «Способ преодоления устойчивости к гентамицину у

метициллинорезистентных штаммов стафилококка» (Патент на изобретение RU 2 553 601 C2).

Далее в эксперименте *in vivo* на кроликах (раздел 5.3 данной главы) было показано, что предлагаемая комбинация может эффективно подавлять развитие инфекции, но не предполагает усиления нефротоксичности, которое возникает при назначении гентамицина в сочетании с ванкомицином, так как диоксидин не вызывает изменения со стороны гломерулярного и тубулярного аппарата почек. Таким образом, эти достоинства позволяют использовать предложенную комбинацию в составе комплексной терапии для профилактики и лечения ортопедических инфекций, в том числе вызванных полирезистентной стафилококковой флорой. В результате нами предложено «Антимикробное средство для профилактики имплант-ассоциированной инфекции и способ его применения» (Патент на изобретение RU 2535156 C1), в котором предлагаемое антимикробное средство, содержащее антибактериальные препараты в разрешенных дозах и способ его применения позволяют предупредить развитие имплантат-ассоциированной инфекции при установке инфицированных ортопедических металлоконструкций за счет сохранения антимикробной активности тканей, окружающих рану, до 14 суток после операции.

Результаты мониторинга антибиотикорезистентности и изучения длительности антимикробной активности образцов костного цемента с различными концентрациями ванкомицина и фосфомицина свидетельствуют, что фосфомицин характеризуется высокой активностью в отношении ведущих возбудителей перипротезной инфекции, а добавление данного антибиотика в гентамицин-содержащий костный цемент существенно увеличивает продолжительность его антимикробного действия в сравнении с ванкомицином в отношении большинства протестированных микроорганизмов. Обобщая выше сказанное, представляется перспективным применение гентамицин-содержащего костного цемента с добавлением 10% фосфомицина для формирования спейсеров при лечении перипротезной инфекции.

ГЛАВА 6. ОБОСНОВАНИЕ СИСТЕМЫ МЕР ПО ОПТИМИЗАЦИИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ ОБЛАСТИ ТАЗОБЕДРЕННОГО ИЛИ КОЛЕННОГО СУСТАВА

Согласно результатам, представленным в главе 3, наибольшую проблему в подборе эффективного антибиотика представляют собой инфекции, вызванные полирезистентными возбудителями, к которым по результатам данного исследования относятся MRSA, MRSE и *Acinetobacter* spp. Обобщив результаты 8-летнего мониторинга резистентности ведущих возбудителей, можно, во-первых, предложить перечень антибактериальных препаратов для этиотропной терапии перипротезной инфекции, ориентированный на профиль резистентности конкретных возбудителей (табл. 6.1). 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 полирезистентных грамотрицательных возбудителей.

Кроме того, еще одним доводом в пользу комбинированной терапии ППИ являются результаты, представленные в главе 4, в которой показано, что концентрации антибиотиков в крови, создаваемые при системном введении стандартных доз, не позволяют значимо подавить штаммы возбудителей, даже при применении препаратов, высокоактивных в отношении стафилококков, таких как – ванкомицин, линезолид, даптомицин, фосфомицин. При этом даптомицин в комбинации с моксифлоксацином затормозил рост зрелой биопленки у 76% тестируемых штаммов (раздел 4.3.5 главы 4), а комбинации моксифлоксацина с фосфомицином и линезолидом были активны в отношении 56 и 52% изолятов, соответственно. Таким образом, антимикробная терапия должна быть комплексной, большедозной, длительной, но при этом безопасной. Эти условия можно реализовать на наш взгляд, сочетанием системного введения препаратов, в максимальных дозах, рекомендованных инструкцией по применению препаратов, и местного (локального), что позволит создать на определенный срок

концентрации препаратов, активные в отношении возбудителей, при отсутствии системных нежелательных эффектов.

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

- 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.

6.1 Рекомендации по эмпирической и этиотропной системной антибактериальной терапии ППИ

С учетом данных по антибиотикорезистентности возбудителей за первые три года исследования (2007–2009 гг.) были разработаны и с 2010 года внедрены в клиническую практику рекомендации по антимикробной терапии перипротезной инфекции, которые были откорректированы с учетом результатов исследования, полученных в более позднее время, и представлены в таблице 6.1. При лечении перипротезной инфекции в качестве препаратов выбора предлагаются:

- при выделении MSSA, MSSE – антибиотики с выраженной антистафилококковой активностью: цефалоспорины I–II поколения или ингибиторзащищенные аминопенициллины в комбинации с рифампицином, при резистентности к нему возбудителей с фосфомицином, или доксициклином, или ко-тримоксазолом, в зависимости от результатов антибиотикограммы;

- при выделении ампициллин-чувствительных энтерококков – ингибиторзащищенные аминопенициллины;
- для терапии инфекций, вызванных MRSA, MRSE, ампициллин-резистентными энтерококками, – ванкомицин, даптомицин, линезолид фосфомицин в комбинации с рифампицином, при резистентности к нему возбудителей, с доксициклином или ко-тримоксазолом, моксифлоксацином и левофлоксацином в зависимости от результатов антибиотикограммы;
- при развитии рецидива инфекционного процесса, вызванного полирезистентными стафилококками или энтерококками, – базовым препаратом рекомендовано назначать линезолид или даптомицин, комбинируя его с рифампицином, или фосфомицином, или доксициклином, или ко-тримоксазолом в зависимости от результатов антибиотикограммы;
- при переходе на пероральный прием антимикробных препаратов для усиления антистафилококкового эффекта – использование комбинации фторхинолонов (предпочтительнее моксифлоксацин и левофлоксацин) с рифампицином, в качестве альтернативы – доксициклин или ко-тримоксазол;
- в случае тяжелого течения инфекции, требующего срочного назначения эмпирической антимикробной терапии – ванкомицин в комбинации с цефоперазоном/сульбактамом или карбапенемом;
- выбор антимикробных препаратов для терапии инфекции, вызванной грамотрицательными микроорганизмами, рекомендовано проводить по результатам антибиотикограммы из-за более низкой частоты выделения данных возбудителей и высокого уровня их антибактериальной резистентности
- предлагается назначение пробиотиков на фоне антибактериальной терапии для профилактики антибиотико-ассоциированного колита.

Более подробная информация о системной АБТ дана в таблице 6.1

Таблица 6.1

Рекомендуемая системная антимикробная терапия перипротезной инфекции

Микроорганизм	Стационарный этап (2 нед.)		Амбулаторный этап (не менее 6 нед.)	
	МНН	Дозировка, кратность ¹ и способ введения	МНН	Дозировка, кратность ¹ и способ введения
Грамположительные аэробные бактерии				
<i>Staphylococcus spp.</i> метициллин-чувствительные	цефазолин или цефуроксим или амоксциллин/клавуланат ² или ампициллин/сульбактам ² + 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
<i>Staphylococcus spp.</i> метициллин-резистентные	даптомицин или ванкомицин ³ 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
<i>Staphylococcus spp.</i> рифампицин-резистентные*	даптомицин или ванкомицин ³ или линезолид + фосфомицин или ко-тримоксазол ⁴	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 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>	

<i>Streptococcus spp.</i>	ампициллин ² или ампициллин/сульбактам ² 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
<i>Enterococcus spp.</i> ампициллин- чувствительные	ампициллин ² + гентамицин ⁴ 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
<i>Enterococcus spp.</i> ампициллин- резистентные*	ванкомицин ³ или линезолид или даптомицин или + гентамицин ⁴ (±) 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
<i>Enterococcus spp.</i> ванкомицин- резистентные * (VRE)	линезолид + гентамицин ⁴ + фосфомицин	600 мг х 2 в/в 3 мг/кг/сут х 1 в/в 4–5 г х 3 в/в	линезолид <i>Индивидуально при рецидивирующем течении: удаление имплантата или пожизненная супрессивная терапия, например, доксициклином, если микроорганизм чувствителен</i>	600 мг х 2 п/о

Грамотрицательные аэробные бактерии				
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 ⁴	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 ⁴ ± 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>			

Анаэробы				
Гр(+): <i>Propionibacterium</i> spp., <i>Peptostreptococcus</i> spp., <i>Finegoldia magna</i>	бензилпенициллин или цефтриаксон или ампициллин ² или ампициллин/сульбактам ² клиндамицин ² + 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	амоксциклин или левофлоксацин или моксифлоксацин клиндамицин ² + рифампицин ³	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.	амоксциллин/клавуланат ² или ампициллин/сульбактам ²	1,2 г х 3 в/в 3 г х 3–4 в/в	амоксциллин/ клавуланат или метронидазол	1,2 г х 3–4 п/о 500 мг х 3
Грибы*				
<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			
Эмпирическая антимикробная терапия (возбудитель неизвестен)				
Индивидуально, зависит от уровня антибиотикорезистентности в отдельном ЛПУ и факторов риска ⁵ выделения полирезистентных Гр(-) возбудителей, в нашем случае:				
<ul style="list-style-type: none"> ➤ нет факторов риска: ванкомицин + цiproфлоксацин ➤ есть факторы риска: ванкомицин + цефоперазон/сульбактам 				

* – трудно поддающиеся эрадикации возбудители

¹ 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, доксицилина, ко-тримоксазола, амоксицилина/клавуланата.

² 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 грамположительной флоры – клиндамицин. Ампициллин/сульбактам в дозе 1,5 г х 3 в/в эквивалентен амоксициллину/клавуланату в дозе 1,2 г х 3, в/в.

³ 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 х 2 р сут.

⁴ 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.

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

6.2. Разработанные способы повышения эффективности локальной антибактериальной терапии

Полученные в результате экспериментов данные о возможности повышения эффективности локальной антибактериальной терапии, изложенные в главе 5, позволили провести клиническую апробацию разработанных способов на ограниченном количестве пациентов, о чем будет подробно изложено в разделе 7.2 главы 7.

Вариант 1 – локальное интраоперационное применение гелеобразных или пастообразных композиций, которые, в идеале, при отсутствии токсичности должны обладать антимикробной активностью, не вымываться из раны в системный кровоток, проявлять антимикробную активность в течение нескольких недель. Применение геле- и пастообразных композиций возможно на любом этапе хирургического лечения, как в случае санации с сохранением эндопротезов, так и его удаления. В данном исследовании разработали полимерную антимикробную композицию с гентамицином и диоксидином. Интраоперационно выполняют орошение указанным антимикробным средством тканей в области операционной раны с последующим её ушиванием. Данный способ позволяет достичь эрадикации имеющейся в ране микрофлоры за счет сохранения в тканях антимикробной активности, которая в экспериментах *in vivo* сохранялась в течение 2 недель (раздел 5.3 главы 5).

Вариант 2 – установка импрегнированного фосфомицином антимикробного спейсера при выполнении первого этапа двухэтапного хирургического лечения ППИ, что позволяет воздействовать на широкий спектр возбудителей (включая стафилококки, в том числе метициллинорезистентные, и грамотрицательные бактерии) и продлить антимикробный эффект цементного спейсера, о чем изложено в разделе 5.4 главы 5. В случае рецидивирующего течения инфекции, наиболее предпочтительно на стадии планирования АБТ выбрать антибиотик для

костного цемента в соответствии с результатами бактериологического исследования.

6.3. Система мер по оптимизации АБТ пациентов с ППИ

Для повышения эффективности антибактериальной терапии ППИ, а, следовательно, и лечения в целом, нами предлагается система мер, изложенная на рисунке 6.1, включающая этапы:

А – стационарный, включающий стадии планирования АБТ и проведения АБТ интра- и послеоперационно с коррекцией системной терапии при необходимости,

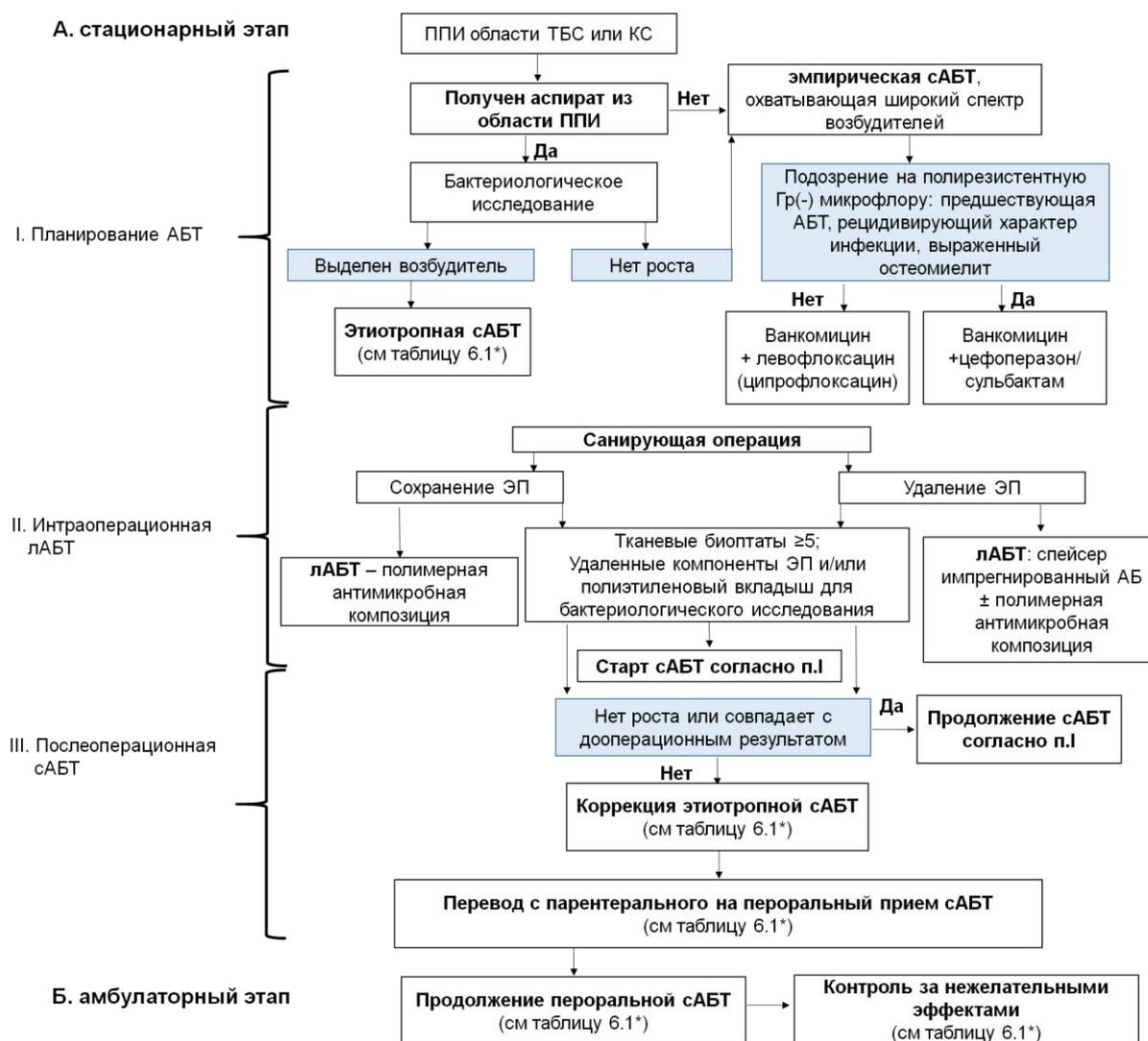
Б – амбулаторный: проведение АБТ и контроль за нежелательными эффектами,

В – системного контроля за назначением и потреблением антибиотиков, включающий ежегодное мониторинг структуры ведущих возбудителей и их антибиотикорезистентности, коррекцию при необходимости рекомендаций по этиотропной и эмпирической АБТ; фармакоэкономический анализ суммарного потребления антибиотиков и финансовых затрат ЛПУ на АБТ с учетом результатов микробиологического мониторинга.

Бактериологическое исследование на стадии планирования АБТ с одной стороны, должно обеспечить наиболее рациональный выбор антибиотиков, как для системного введения, так и для локальной АБТ в каждом конкретном случае, а с другой, – это важный этап для последующего пересмотра и коррекции рекомендаций по эмпирической антибактериальной терапии. Результаты, полученные при исследовании интраоперационных тканевых биоптатов и удаленных конструкций, также позволяют не только откорректировать системную АБТ данному пациенту, но и дают информацию для комплексного анализа этиологического фактора ППИ.

В целом, рациональная АБТ должна преследовать две цели: одна – тактическая – эрадикация инфекции у конкретного пациента, другая – стратегическая – сдерживание роста резистентности возбудителей и рациональное

расходование финансовых средств ЛПУ. В связи с вышесказанным в главе 7 будут представлены результаты оценки эффективности применяемой системы оптимизации АБТ методами фармакоэкоэпидемиологического и клинико-экономического анализа.



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

Рисунок 6.1. Система мер по оптимизации антибактериальной терапии (АБТ) при выполнении санирующей операции при лечении пациентов с ППИ области тазобедренного (ТБС) и коленного (КС) суставов

сАБТ – системная антимикробная терапия

лАБТ – локальная (местная) антимикробная терапия

* – название препаратов, дозировки, режим введения, продолжительность курса и способы контроля нежелательных эффектов указаны в таблице 6.1.

В случае выполнения одноэтапной замены эндопротеза или выполнения ревизионного эндопротезирования пациентам со спейсером коленного или тазобедренного сустава сохраняется аналогичный алгоритм микробиологического обследования (рис. 6.1). При этом выбор препаратов для антибактериальной терапии основывается на результатах бактериологического исследования аспирата при одноэтапной замене эндопротеза или с учетом возбудителей, выделенных при выполнении saniрующего этапа. Однако начинают введение антибиотиков по правилам антимикробной профилактики – за 30–40 минут до выполнения разреза.

ГЛАВА 7. РЕЗУЛЬТАТЫ ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПОТРЕБЛЕНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Ретроспективно с применением АВС-анализа была определена приоритетность финансовых затрат в структуре используемых АМП ежегодно за период 2007–2014 гг. в отделении гнойной хирургии в РНИИТО им. Р.Р. Вредена. Для определения объема потребления антибиотиков рассчитывали показатель средней поддерживающей дозы на 100 койко-дней (DDD/100 к/д). Также выполнено сопоставление указанных параметров за период 2007–2009 гг. и 2010–2012 гг., то есть за три года до и три года после внедрения в клиническую практику рекомендаций по АБТ, представленных в главе 6.

7.1. Результаты фармакоэкономического анализа

7.1.1. Влияние научно обоснованных рекомендаций по антимикробной терапии ППИ на уровень потребления антибиотиков и финансовые затраты ЛПУ на данную группу препаратов

Анализ влияния разработанных рекомендаций по антимикробной терапии на финансовые затраты и уровень потребления антибиотиков за период 2010–2012 гг. в сравнении с 2007–2009 гг. (до и после внедрения рекомендаций в клиническую работу) проводили по группам антимикробных препаратов, которые сформировали в зависимости от активности АМП в отношении MR-чувствительных и -резистентных штаммов стафилококков. Были выделены:

➤ группа ингибиторозащищенных аминопенициллинов (ИЗ-АП) и цефалоспоринов I–II поколения (ЦП I–II), которые обладают высокой активностью в отношении MS-стафилококков и неактивны в отношении MR-штаммов;

➤ группа цефалоспоринов III–IV поколения и карбапенемов, которые неактивны в отношении MR-штаммов стафилококков и уступают в активности

против MS-штаммов ИЗ-АП и ЦП I–II, не рассматриваются как препараты выбора при лечении стафилококковой ортопедической инфекции;

➤ группа препаратов с анти-MR-активностью: ванкомицин, линезолид, рифампицин, ко-тримоксазол, доксициклин, фосфомицин;

➤ фторхинолоны, чувствительность стафилококков к которым по данным локального мониторинга сохранена у 75% изолятов;

➤ аминогликозиды, не рассматриваются как препараты выбора при лечении стафилококковой инфекции.

Фармакоэпидемиологический анализ с использованием DDD-методологии показал, что в период 2007–2009 годов первое место по уровню потребления занимали фторхинолоны ($21,9 \pm 2,5$ DDD/100 к/д), второе – цефалоспорины III–IV поколения ($19,8 \pm 1,8$), третье – ИЗ-АП ($17,9 \pm 1,6$), четвертое – ванкомицин ($11,5 \pm 1,2$). После введения в клиническую работу разработанных рекомендаций по системной терапии ППИ уже с 2010 г. начала меняться структура потребления антибиотиков: первое место сохранили фторхинолоны (18,8 DDD), на второе перешли ИЗ-АП (18,4 DDD), на третье – ванкомицин (15,8 DDD), а использование цефалоспоринов III–IV поколения снизилось до 12,8 DDD, в 2012 г. – первое место сохранили фторхинолоны (25,1 DDD), далее следовали ванкомицин (18,9 DDD), ИЗ-АП (18,5 DDD) и цефалоспорины III–IV снизилось до 11,7 DDD.

При сопоставлении совокупного уровня потребления АМП за 3 года до и 3 года после внедрения рекомендаций значимых изменений потребления ИЗ-АП и ЦП I–II не выявлено (рис. 7.1). В соответствии со спектром выделяемых микроорганизмов (преобладание стафилококков, в том числе треть полирезистентные штаммы) отмечено увеличение потребления антибиотиков с анти-MR-активностью ($p < 0,01$), которое увеличилось в 2,5 раза. В тоже время, за период 2010–2012 гг. значительно сократилось потребление цефалоспоринов III–IV поколения и карбапенемов ($p < 0,05$), применение которых было ограничено лечением перипротезной инфекции, обусловленной только полирезистентными грамотрицательными бактериями или микробными ассоциациями (рис. 7.1).

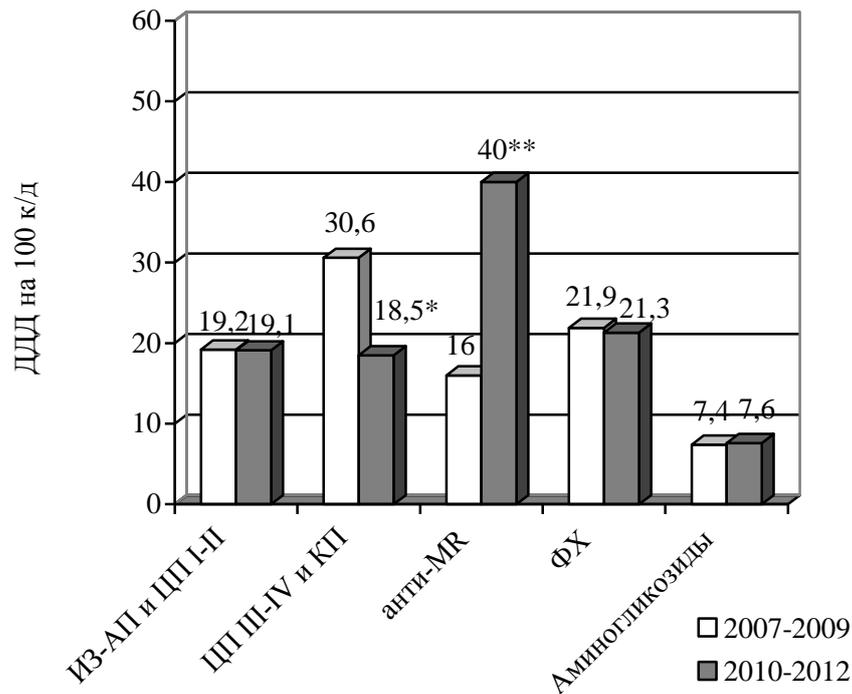


Рисунок 7.1. Совокупный уровень потребления групп антибиотиков до (2007–2009 гг.) и после (2010–2012 гг.) внедрения в работу гнойного отделения рекомендаций по антибактериальной терапии

* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в сравнении с потреблением в 2007–2009 гг.

Существенных изменений в потреблении фторхинолонов и аминогликозидов установлено не было. Более подробно выявленные изменения рассматриваются в последующих разделах данной главы. За оба анализируемых периода, в группе А первое и второе место по финансовым затратам занимали ванкомицин и цефалоспорины, однако, за 2010–2012 отмечается увеличение доли затрат на ванкомицин и снижение затрат на цефалоспорины (табл. 7.1). Кроме того, выявлено увеличение доли финансовых затрат на препараты, обладающие активностью в отношении метициллинорезистентных стафилококков – линезолид, ко-тримоксазол, рифампицин, фосфомицин, доксициклин. В целом, указанные изменения совпадают с динамикой совокупного уровня потребления антимикробных препаратов, что свидетельствует о том, что изменения финансовых затрат связаны с изменением режима и частоты назначения препаратов, а не их стоимости.

Таблица 7.1

Результаты ABC-анализа структуры финансовых затрат на антибактериальные препараты в отделении гнойной хирургии за 2007–2009 и 2010–2012 гг.

2007–2009			2010–2012		
Группа препаратов	Доля затрат, %	Кумулятивный %	Группа препаратов	Доля затрат, %	Кумулятивный %
Группа А			Группа А		
Гликопептиды	35,5		Гликопептиды	42,3	
Цефалоспорины	32,4	67,9	Цефалоспорины	15,1	57,4
Группа В			ИЗ-АП	13,9	71,3
ИЗ-АП	20,8	88,7	Группа В		
Фторхинолоны	4,0	92,7	Линезолид	10,3	81,6
Карбапенемы	3,9	96,7	Карбапенемы	8,1	89,7
Аминогликозиды	2,1	98,7	Фторхинолоны	6,9	96,6
Группа С			Группа С		
Имидазолы	0,1	98,9	Другие	2,3	98,9
Линезолид	0,6	99,4	Аминогликозиды	1,1	100,0
Другие	0,6	100,0	Имидазолы	0,0	100,0

Здесь и далее: Другие – бисептол, рифампицин, фосфомицин, доксициклин

Согласно Приказу МЗ РФ от 22.10.03 №494 в группы А, В и С входят лекарственные препараты, на которые тратится 70–80%, менее 20% и 5–7% средств для покупки медикаментов, соответственно.

7.1.2. Динамика финансовых затрат на антибиотики и динамика уровня их потребления в специализированном отделении гнойной хирургии за 2007–2014 гг.

В среднем за исследуемый период времени доля затрат на антибактериальные препараты для лечения инфекций костей и мягких тканей у пациентов отделения гнойной хирургии составила 67,8% от общих затрат отделения на лекарственные препараты. Лидирующие позиции в структуре затрат занимает группа гликопептидов (табл. 7.2), а именно – ванкомицин, второе место – антибиотики группы цефалоспоринов. Общие затраты на группу бета-лактамных антибиотиков составили 47,1% от общей суммы затрат на антибактериальные препараты. Как видно на рисунке 7.2 доля ежегодных затрат на антибиотики в 2007–2014 гг. колебалась в пределах 58,8–78,8% (от общих затрат в отделении на лекарственные препараты), при этом затраты в 2013 и 2014 гг. были значимо ниже ($p < 0,05$), чем в 2007 г. – в начале периода исследования.

Таблица 7.2

Структура финансовых затрат на антибактериальные препараты за 8-летний период наблюдения

Группы антибиотиков	Доля затрат на АБ, %	Кумулятивный %
<i>Группа А</i>		
Гликопептиды	38,9	
Цефалоспорины	23,8	62,7
ИЗ-АП	17,4	80,1
<i>Группа В</i>		
Карбапенемы	6,0	86,1
Фторхинолоны	5,5	91,6
Линезолид	5,4	97
<i>Группа С</i>		
Аминогликозиды	1,6	98,6
Другие	1,4	100

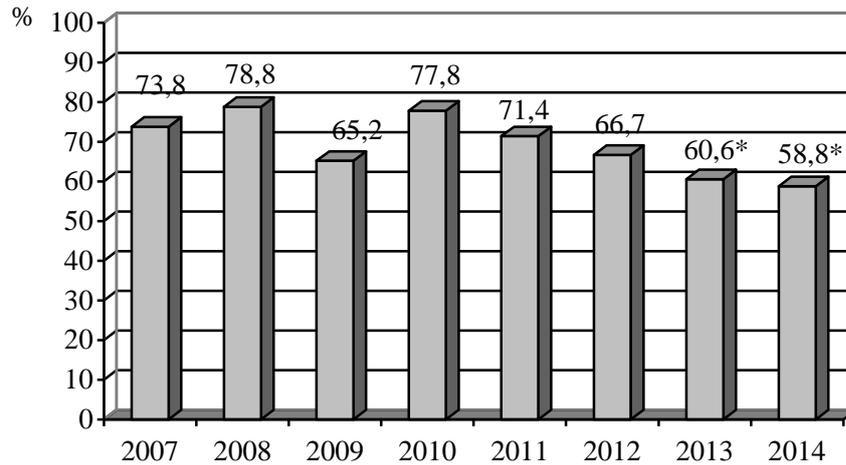


Рисунок 7.2. Динамика по годам доли финансовых затрат на антибактериальные препараты в отделении гнойной хирургии

* – $p < 0,05$ в сравнении с 2007 г.

Динамика уровня потребления антимикробных препаратов в целом для лечения инфекции области хирургического вмешательства после крупных ортопедических операций представлена на рис. 7.3. Установлено некоторое увеличение показателя DDD потребления антибиотиков в расчете как на 100 койко-дней, так и на 1 прооперированного больного с 2012 г. По-видимому, указанная тенденция обусловлена широким применением комбинированной терапии инфекции после больших ортопедических операций и увеличением рекомендованных для лечения дозировок ряда препаратов.



Рисунок 7.3. Динамика общего потребления антибактериальных препаратов (DDD) на 100 к/д и одного прооперированного больного в отделении гнойной хирургии

7.1.2.1. Динамика потребления бета-лактамовых антибиотиков

В группе бета-лактамовых антибиотиков применяли преимущественно ИЗ-АП и цефалоспорины III–IV поколений (рис. 7.4). Использование карбапенемов (имипенем/циластатин, меропенем) не превышало 1,9 DDD/100 к/д и было стабильно низким весь период наблюдения в связи с тем, что данные препараты входят в группу глубокого резерва и их применение ограничено эмпирической терапией инфекции у пациентов в критическом состоянии в комбинации с ванкомицином или линезолидом, а также этиотропной терапией инфекции, вызванной грамотрицательными полирезистентными микроорганизмами или микробными ассоциациями. Значимых изменений потребления ИЗ-АП (амксициллин/клавулановая кислота, ампициллин/сульбактам) в динамике выявлено не было – в среднем за восемь лет их потребление составило $(17,3 \pm 1,15)$ DDD/100 к/д. Существенный уровень использования данной группы препаратов обусловлен их высокой антистафилококковой активностью, меньшим количеством нежелательных реакций по сравнению с оксациллином и возможностью «ступенчатой терапии», что особенно актуально для лечения пациентов с перипротезной инфекцией, которым необходимы длительные курсы антимикробной терапии.

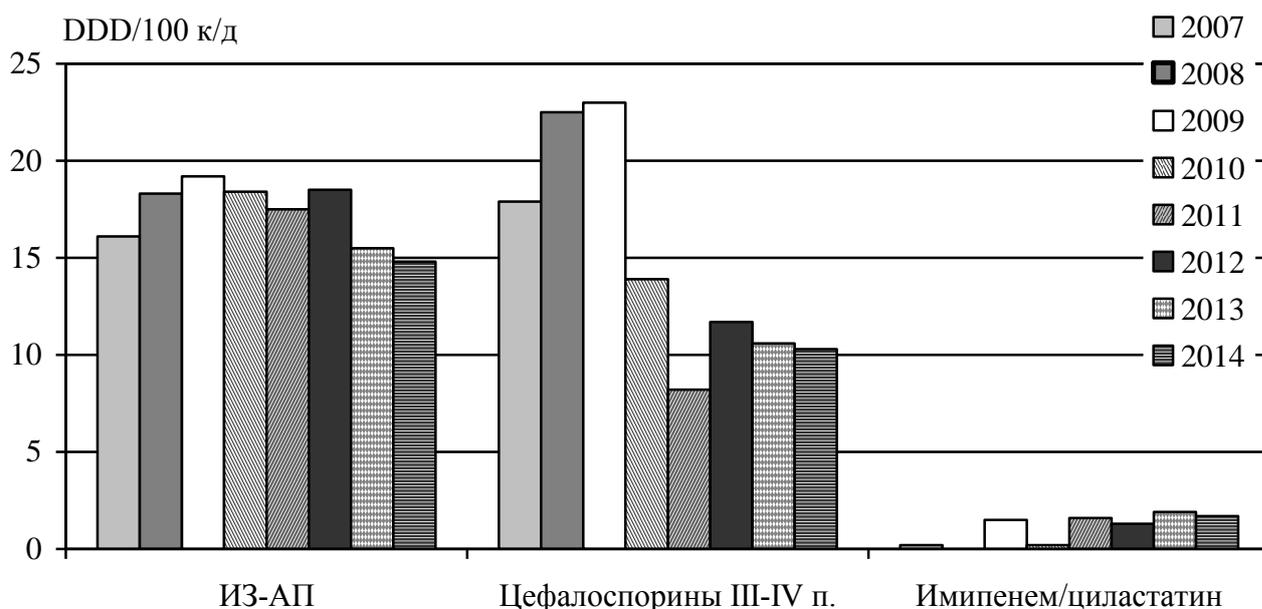


Рисунок 7.4. Динамика потребления бета-лактамовых антибиотиков в отделении гнойной хирургии

За анализируемый период времени установлено некоторое увеличение доли потребления ампициллина/сульбактама и снижение – пероральной и парентеральной форм амоксициллина/клавуланата (рис. 7.5). Ампициллин/сульбактам является препаратом выбора для пациентов с инфекцией, вызванной штаммами MSSA, с избыточной массой тела и сопутствующей патологией печени в связи высоким профилем безопасности и возможностью назначения до 12 г в сутки, что эквивалентно 8 г ампициллина. Кроме того, при сопоставимой антимикробной активности назначение ампициллина/сульбактама характеризуется большей экономической обоснованностью, что в нашем исследовании привело к сокращению доли финансовых затрат на данную группу антибиотиков (табл. 7.1).

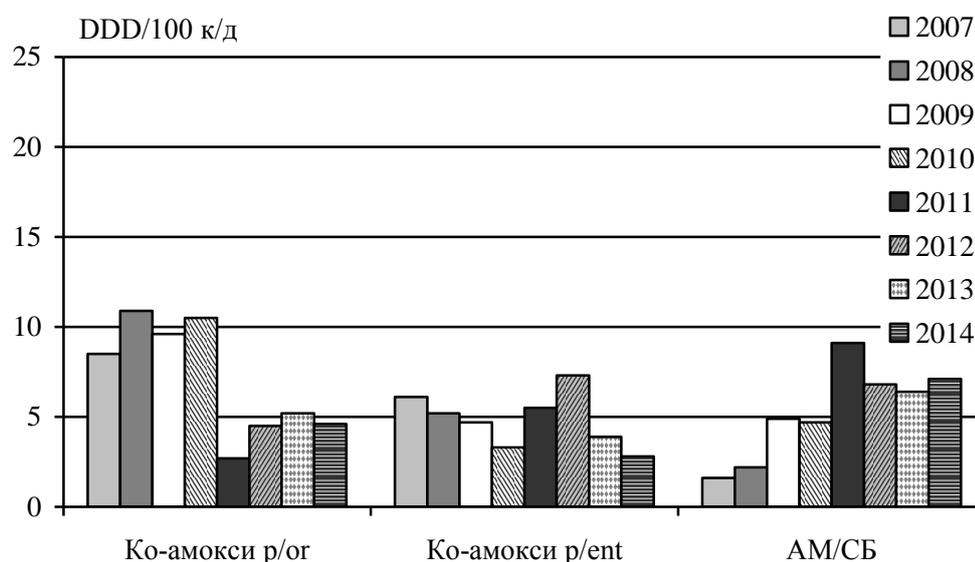


Рисунок 7.5. Динамика потребления препаратов из группы ИЗ-АП:

Ко-амокси p/or – амоксициллин/клавуланат в таблетках,

Ко-амокси p/ent – амоксициллин/клавуланат для инфузии,

АМ/СБ – ампициллин/сульбактам для инфузии

Углубленный анализ потребления цефалоспориновых антибиотиков (рис. 7.6) показал, что в отделении гнойной хирургии наиболее часто назначаемым препаратом из группы цефалоспоринов является цефоперазон/сульбактам. Однако с 2010 года, после введения рекомендаций по этиотропной антибактериальной терапии перипротезной инфекции, уменьшилось потребление цефалоспоринов

III–IV поколения в целом: с 22,5 (IQR 17,9–23,0) до 10,6 (IQR 10,3–10,7) DDD/100 к/д ($p=0,04$) за 2007–2009 и 2010–2014 гг., соответственно. Значимое снижение использования (рис. 6.7) цефтриаксона с 2,9 (IQR 2,8–4,1) до 1,4 (1,1–1,4) DDD/100 к/д ($p=0,04$) в указанные периоды обусловлено рекомендациями избегать его назначения для этиотропной терапии инфекций, вызванных MSSA.

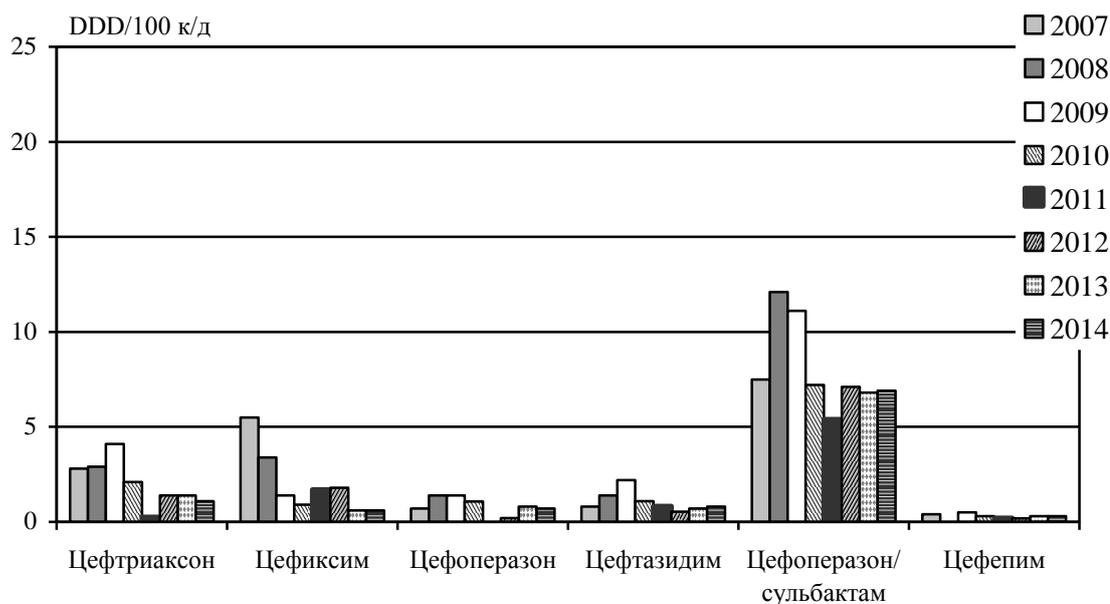


Рисунок 7.6. Динамика потребления цефалоспоринов III–IV поколений

Ограничение применения цефоперазона/сульбактама только для эмпирической антибактериальной терапии у пациентов с тяжелым течением инфекции и этиотропной – при инфекциях, вызванных полирезистентными грамотрицательными возбудителями, в том числе в составе микробных ассоциаций, привело к существенному снижению ($p=0,04$) его потребления с 11,1 (IQR 7,5–12,1) до 6,9 (IQR 6,8–7,1) DDD/100 к/д. Показатели DDD цефоперазона и цефтазидима существенно не изменялись, так как эти препараты назначают в составе комбинированной терапии с амикацином только при выделении штаммов *P. aeruginosa*, чувствительных к данным препаратам, а частота выделения данного микроорганизма при перипротезной инфекции, как было показано в главе 3, невысока и за анализируемый период времени составила 5,1 %.

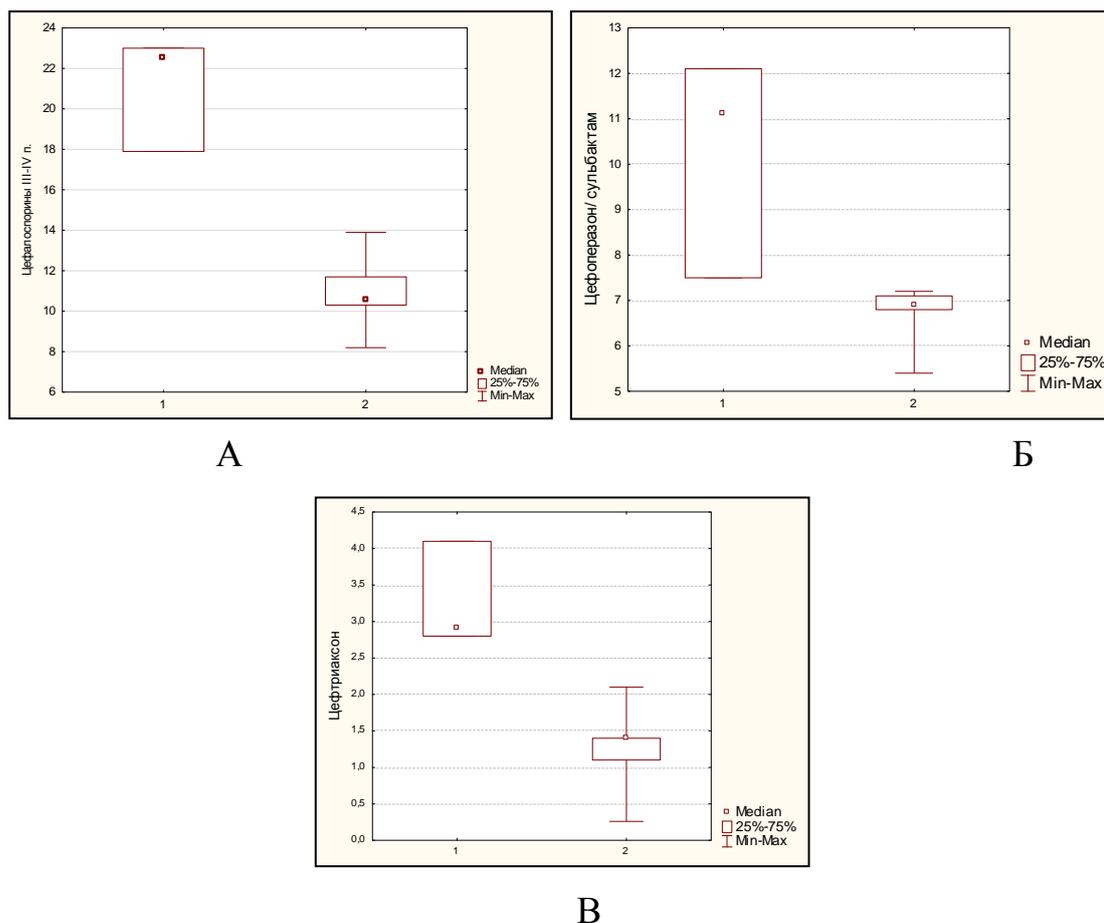


Рисунок. 7.7. Влияние рекомендаций по системной АБТ на потребление (DDD/100 к/д) цефалоспоринов III–IV поколений (А), цефоперазона/сульбактама (Б) и цефтриаксона (В), $p < 0,05$

1 – период 2007–2009 гг. до внедрения рекомендаций по АБТ,
2 – период 2010–2014 гг. после внедрения рекомендаций по АБТ

7.1.2.2. Динамика потребления антибиотиков из группы фторхинолонов

Частотный анализ применения антибактериальных препаратов из группы фторхинолонов (рис. 7.8) показал, что за исследуемый период стабильно высоким остается уровень потребления ципрофлоксацина. Как правило, данный препарат назначают для комбинированной антимикробной терапии перипротезной инфекции стафилококковой этиологии в сочетании с ванкомицином, рифампицином, ко-тримоксазолом и доксициклином или по результатам

бактериологических исследований, при инфекциях, вызванных чувствительными к нему микроорганизмами. При этом активно используют «ступенчатую терапию» с переходом на пероральный путь введения после снятия острых проявлений инфекционно-воспалительного процесса. Кроме того, более чем в 10 раз ($p=0,04$): с 0,17 (IQR 0–0,4) в 2007–2009 гг. до 1,9 (1,2–2) DDD/100 к/д в 2010–2014 гг. (рис. 7.9), возросло потребление моксифлоксацина, сохраняющего активность в отношении более 95% MS-штаммов стафилококков, и около 25% – MR-изолятов (раздел 3.2 глава 3).

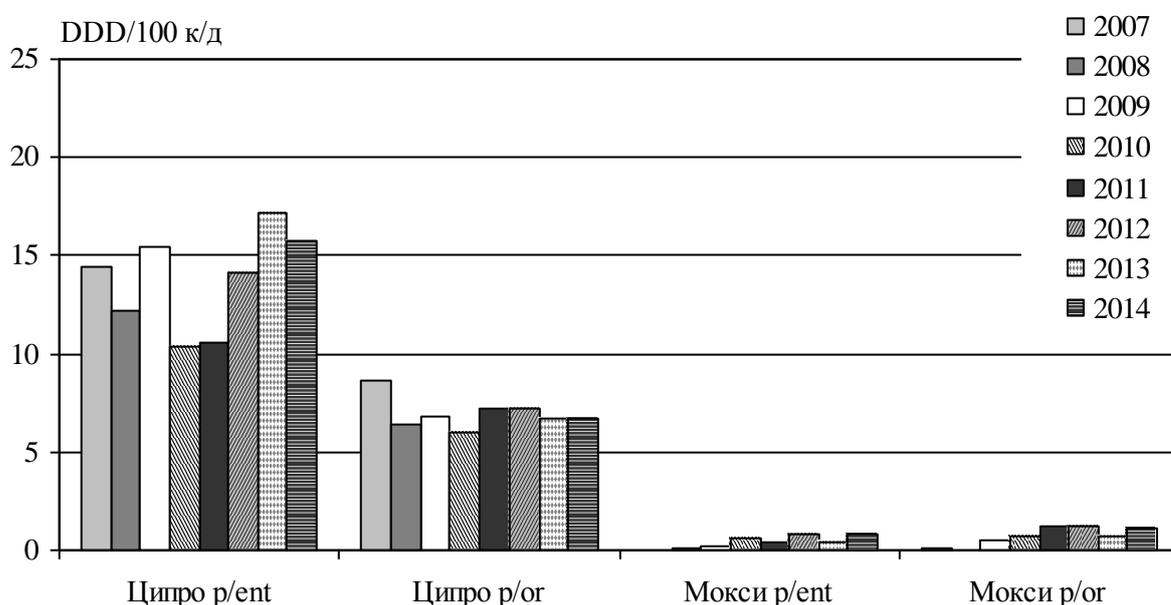


Рисунок 7.8. Динамика потребления фторхинолонов за 2007–2012 гг.:

Здесь и далее: Ципро p/ent – ципрофлоксацин в растворе,

Ципро p/or – ципрофлоксацин в таблетках,

Мокси p/ent – моксифлоксацин в растворе,

Мокси p/or – моксифлоксацин в таблетках

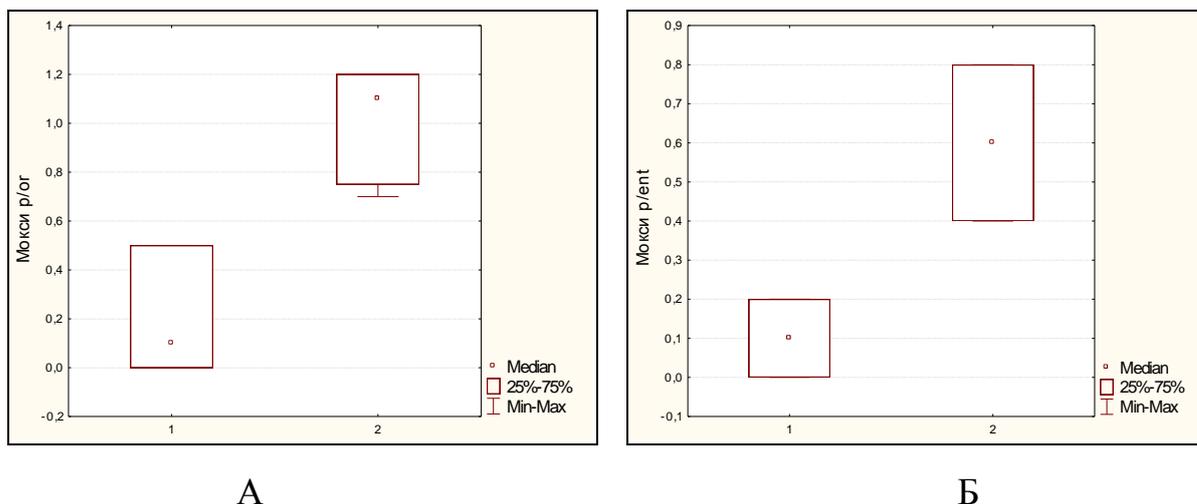


Рисунок 7.9. Влияние рекомендаций по системной АБТ на потребление (DDD/100 к/д) моксифлоксацина в растворе (А) и таблетках (Б), $p < 0,05$

1 – период 2007–2009 гг. до внедрения рекомендаций по АБТ,

2 – период 2010–2014 гг. после внедрения рекомендаций по АБТ

7.1.2.3. Динамика потребления антибиотиков с антистафилококковым эффектом из других групп

В соответствии со спектром выделяемых микроорганизмов (подавляющее преобладание стафилококков, в том числе полирезистентных штаммов) отмечено увеличение потребления ванкомицина, которое за период исследования увеличилось на 60% и составило в 2012 г. 18,9 DDD/100 к/д (рис. 7.10). В 2010 г. в формулярный перечень был введен линезолид как препарат резерва для терапии рецидивирующей глубокой ИОХВ, вызванной полирезистентными грамположительными микроорганизмами. Медиана потребления ванкомицина возросла ($p=0,04$) с 11,8 (IQR 10,2–12,6) в 2007–2009 гг. до 17,5 (IQR 15,8–18,3) DDD/100 к/д в 2010–2014 гг. (рис. 7.11). Линезолид до 2010 г не применяли, а в период 2010–2014 гг. медиана его потребления составила 1,1 (IQR 0,8–1,2) DDD/100 к/д ($p=0,04$).

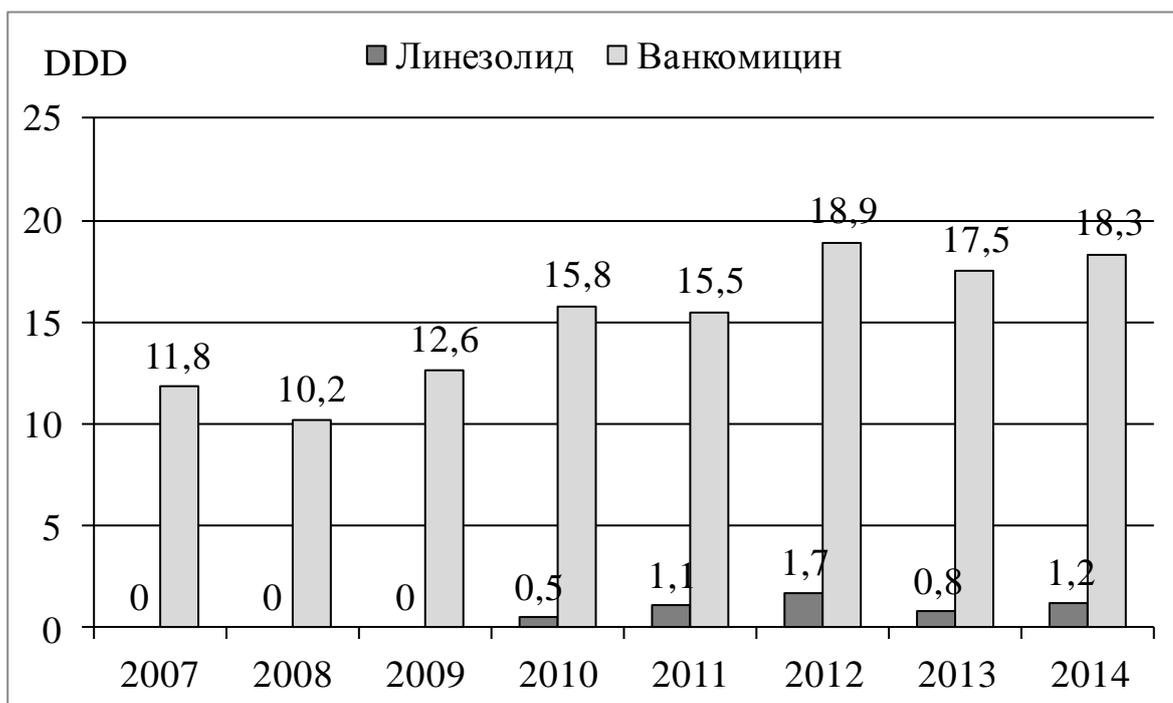


Рисунок 7.10. Динамика потребления антибиотиков, высоко активных в отношении MR-стафилококков за 2007–2014 гг.

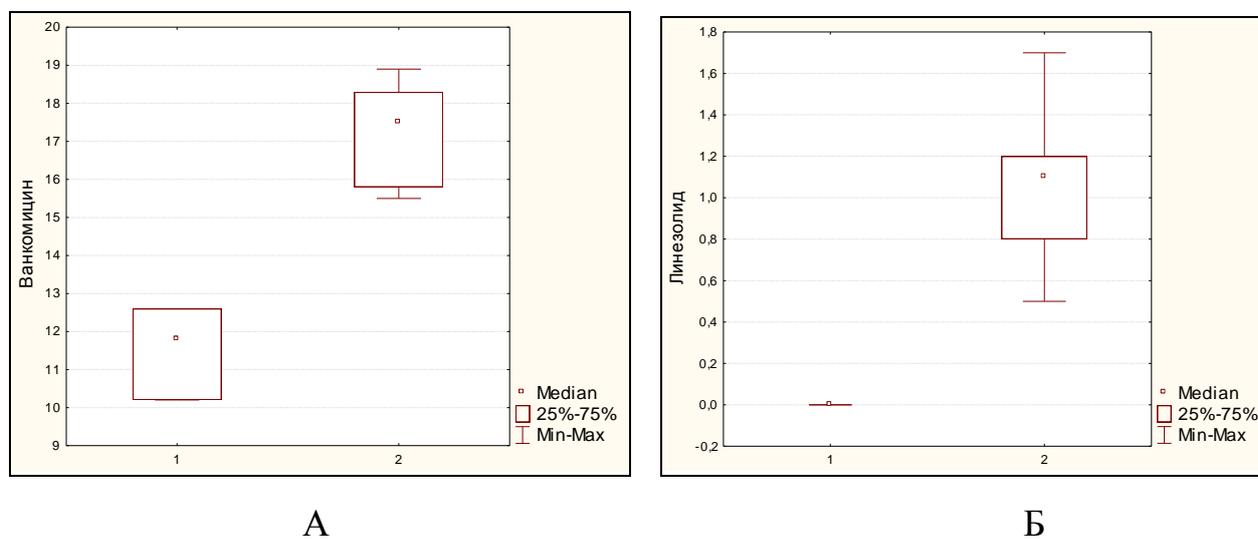


Рисунок 7.11. Влияние рекомендаций по системной АБТ на потребление (DDD/100 к/д) ванкомицина (А) и линезолида (Б), $p < 0,05$

1 – период 2007–2009 гг. до внедрения рекомендаций по АБТ,

2 – период 2010–2014 гг. после внедрения рекомендаций по АБТ

Кроме того, в связи с активным использованием с 2010 г. комбинированной АБТ для усиления антистафилококкового эффекта и эффективности в отношении микробных биопленок в отделении гнойной хирургии наблюдается увеличение использования рифампицина, ко-тримоксазола, доксициклина и фосфомицина (рис. 7.12). При этом наиболее значимым было увеличение частоты использования рифампицина, медиана потребления которого за период 2010–2014 гг. составила 8,6 (IQR4,4–14,7) DDD/100 к/д. Сопоставить уровень потребления указанных препаратов за 2010–2014 гг. с аналогичным показателем за 2007–2008 гг. не представляется возможным, в связи с началом применения ко-тримоксазола с 2008 г., а остальных препаратов – с 2009 г.

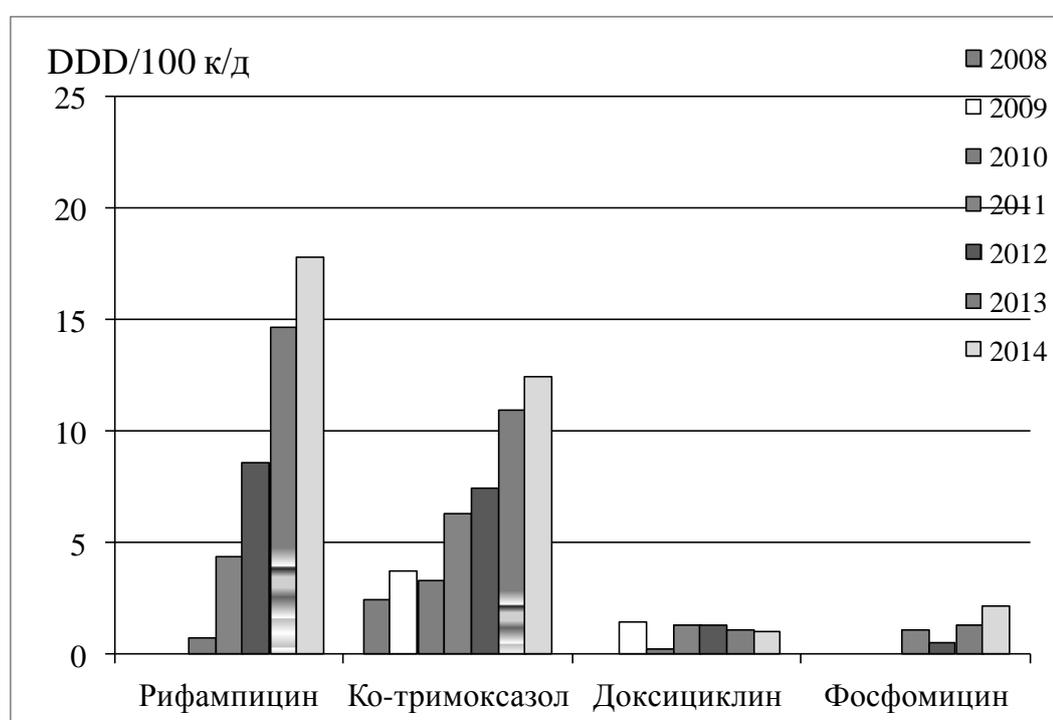


Рисунок 7.12. Динамика потребления антибиотиков, применяемых в составе комбинированной терапии стафилококковой инфекции за 2007–2014 гг.

7.1.2.4. Динамика потребления антибиотиков с других групп

Показатель DDD для амикацина за период исследования изменялся незначительно (рис. 7.13) и в среднем составил 7,5 DDD. Данный препарат используется только в составе комбинированной терапии, для лечения инфекций,

вызванных полирезистентными штаммами грамотрицательных бактерий или микробными ассоциациями с их участием. Потребление метронидазола для лечения ППИ было крайне незначительным в течение всего периода наблюдения (рис. 7.13).

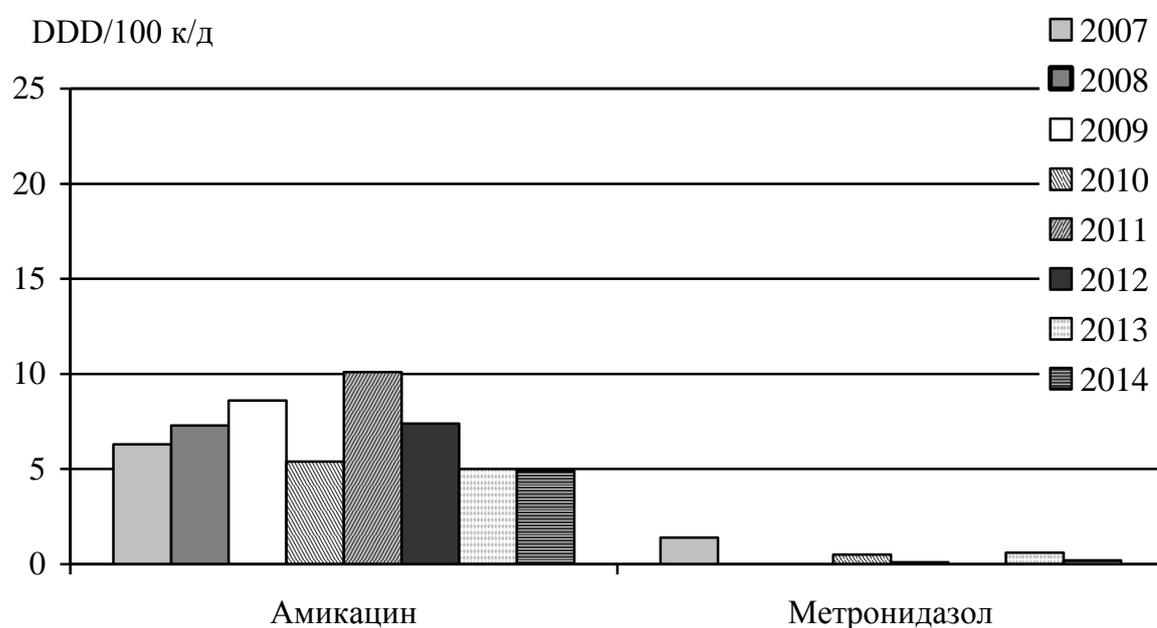


Рисунок 7.13. Динамика потребления амикацина и метронидазола за 2007–2014 гг.

7.1.3. Оценка влияния потребления антибиотиков на частоту выделения метициллинорезистентных штаммов стафилококков

Как было показано в главе 3 (п. 3.2) в течение периода наблюдения частота выделения MRSA снизилась с 32,8% до 20,6% (рис. 3.4), а частота MRSE колебалась, возрастая с 33,3 в 2007 до 78,3% в 2009 г., а затем установлено некоторое снижение данного показателя, до 62,1% в 2014 г. Для оценки влияния потребления антибиотиков на метициллинорезистентность (рис. 7.14) был выполнен корреляционный анализ по Спирмену (r -Spearman's) для поиска связей между потреблением антибиотиков и изменением частоты выделения штаммов MRSA и MRSE за период исследования. В результате, выявлена сильная прямая 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, и 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 ($r= - 0,95$, $p<0,05$).

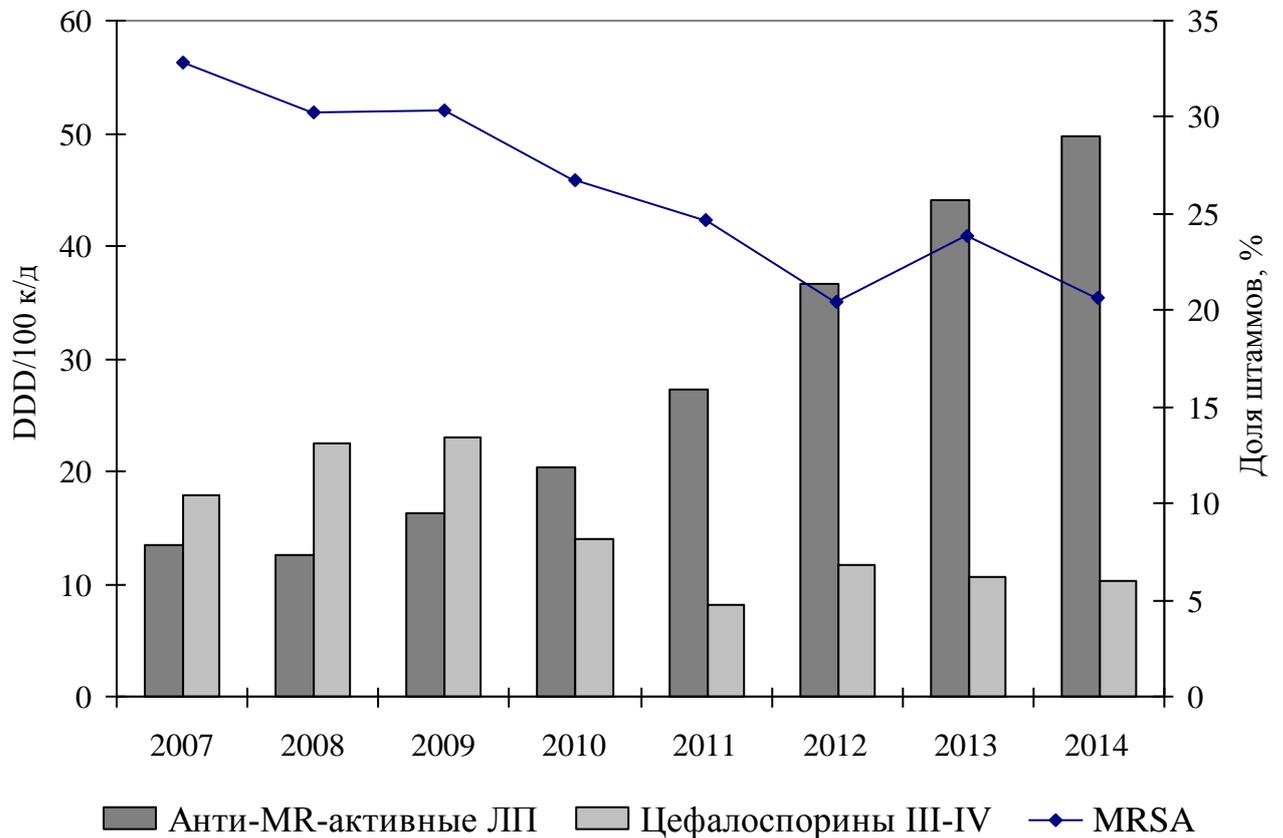


Рисунок 7.14. Взаимосвязь динамики потребления цефалоспоринов III–IV поколения, активных в отношении MR-штаммов лекарственных препаратов и частоты выделения MRSA

Таким образом, снижение потребления цефалоспоринов III поколения и увеличение использования препаратов с высокой активностью против MRSA привело к снижению доли штаммов MRSA в этиологической структуре ППИ, что свидетельствует о достижении одной из стратегических целей внедрения системы мер по оптимизации АБТ, а именно – контроля уровня резистентности лидирующих возбудителей ППИ.

7.2. Клинико-экономическая эффективность лечения ППИ

7.2.1. Результаты клинико-экономического анализа эффективности лечения при различной хирургической тактике санации у пациентов с ППИ

Проведен проспективный анализ историй болезни 100 пациентов, находившихся на лечении в отделении гнойной хирургии в период 2012–2013 гг. по поводу ИОХВ стафилококковой этиологии после эндопротезирования тазобедренного или коленного суставов. Всем пациентам были выполнены ревизионные операции в объеме ревизия, санация, удаление эндопротеза, установка цементного спейсера, дренирование (I группа, n=75) или ревизия гнойного очага, санация, дренирование с сохранением эндопротеза (II группа, n=25).

Анализ исследуемых выборок тестом Холмогорова-Смирнова показал, что распределение части количественных признаков (койко/дни, суммы на все виды анализируемых фактических затрат) не отличалось от нормального, в связи с чем полученные данные представляли с помощью среднего арифметического (M_{cp}) и 95% доверительного интервала (ДИ 95%), различия между группами оценивали с помощью T-критерия Стьюдента. Распределение других количественных признаков (возраст, ИМТ, время существования инфекции, время с момента последней операции) значительно отличались от нормального, в связи с чем, в качестве меры центральной тенденции для количественных признаков использовали медиану (Me), а в качестве мер рассеяния – нижний ($Q1$) и верхний ($Q3$) квартили (25–75% IQR). Сопоставление количественных признаков между группами сравнения проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, который иногда называют критерием Вилкоксона для непарных выборок (Wilcoxon rank sum test) (Гржибовский А. М., 2008). Статистический анализ номинальных переменных для сравнения частоты встречаемости признака проводили с использованием Z-критерия стандартного нормального

распределения для оценки разности между долями (Сергиенко В.И., Бондарева И.Б., 2000). Различия принимали за достоверные при $p < 0,05$.

Характеристика исследуемых групп пациентов представлена в таблице 7.3. Группы не различались по локализации инфекционного очага, I группа отличалась от второй меньшим количеством женщин (67,6 vs 88,2%) и более молодым возрастом пациентов (57 vs 67 лет). У большинства пациентов, включенных в исследование, имелась сопутствующая патология сердечно-сосудистой системы, при этом риск развития сердечно-сосудистых осложнений 3–4 был выставлен 52,7 и 47,1% пациентов I и II групп, соответственно. Патология желудочно-кишечного тракта (язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, гастрит) встречалась у 40,5% больных I группы и 52,9% – II группы. Гораздо реже встречались патология дыхательной системы, инфекция МВП, хроническая вирусная инфекция и диабет. Установлено, что ожирение с ИМТ > 30 кг/м² было у 41,2% пациентов второй группы, что значительно превышает ($p < 0,05$) аналогичный показатель в первой группе (18,9%). Медиана ИМТ составила 26,3 и 32,7 кг/м² для пациентов I и II групп, соответственно ($p = 0,011$). Ревматоидным полиартритом страдали 8,1% пациентов первой группы, во второй группе не было пациентов с указанной патологией ($p < 0,05$).

Анемия на момент поступления в отделение гнойной хирургии была диагностирована у около 60% всех пациентов с ИОХВ после эндопротезирования, включенных в исследование, гипопропротеинемия – у 16,2 и 23,5% пациентов I и II групп, соответственно.

Таблица 7.3

Общая характеристика пациентов с инфекцией протезированного сустава в зависимости от выполненного оперативного вмешательства

Характеристики	Группа I n=75	Группа II n=25	P
Возраст, лет, Me (25–75% IQR)	57 (49–66)	67 (54,5–71)	0,046
Женщин, %	66,7	88,2	<0,05
Инфекция в области ТБС, %	68,0	70,6	>0,05
Инфекция в области КС, %	32,0	29,4	>0,05

Продолжение таблицы 7.3.

Системные заболевания (РА, СКВ), %	8,0	0,0	<0,05
Гипертензия, %	66,7	58,8	>0,05
Риск ССО 3 и выше, %	52,0	47,1	>0,05
ИМТ, кг/м ² , Ме (25–75% IQR)	26,3 (24,5–31,6)	32,7 (31,3–34,1)	0,011
Патология дыхательной системы, %	14,7	5,9	>0,05
Инфекция МВП, %	12,0	11,8	>0,05
Хроническая вирусная инфекция, %	13,3	17,6	>0,05
Диабет, %	12,0	5,9	>0,05
Патология ЖКТ, %	40,0	52,9	>0,05
Анемия при поступлении, %	58,7	58,8	>0,05
Гипопротеинемия при поступлении, %	16,0	23,5	>0,05
2 и более предшествующих операции, %	67,7	41,2	>0,05
Наличие saniрующих операций в анамнезе, %	31,1	11,8	<0,01
Время существования инфекции, мес., Ме (25–75% IQR)	1,3 (0,5–15)	1 (0,5–4)	>0,05
Время манифестации, мес., Ме (25–75% IQR)	7 (3,5–23)	2,5 (1–4,5)	<0,000
Монобактериальная ППИ, %	69,2	76,5	>0,05
Ассоциация с Gr(–), %	30,8	23,5	>0,05
MR штаммы, %	34,7	11,8	<0,05
<i>S. aureus</i> , %	66,2	58,8	>0,05
<i>S. epidermidis</i> , %	34,7	41,2	>0,05
MR среди <i>S. aureus</i> , %	16,3	0,0	<0,05
MR среди <i>S. epidermidis</i> , %	64,0	28,6	>0,05
Рецидив в течение 1 года, %	28	17,6	>0,05

Анализ данных анамнеза показал (табл. 7.3), что около 31% пациентов в первой группе и только около 12% – во второй ($p < 0,05$) перенесли ранее saniрующие операции по поводу инфекционного процесса в области оперированного сустава. Кроме того, существенные различия ($p < 0,0001$)

установлены между группами по времени манифестации инфекции: медиана 7 мес. (25–75% IQR: 3,5–23) и 4,1 мес. (25–75% IQR: 1–4,5).

Средний койко-день составил 25,3 (ДИ 95%: 23,5–27,1) сут. и 23,1 (ДИ 95%: 18,0–28,2) сут для I и II групп соответственно, послеоперационный койко-день также значительно не различался: 15,3 сут (ДИ 95%: 14,1–16,5) и 16,5 сут (ДИ 95%: 12–21). Рецидив инфекции был отмечен в 28 и 17,6% случаев в I и II группе, соответственно ($p>0,05$).

7.2.1.1. Расчет «стоимости болезни» пациентов с ППИ после ЭП ТБС или КС в зависимости от хирургической тактики санации гнойного очага

В связи с тем, что мы ставили перед собой задачу рассчитать фактическую «стоимость заболевания», то при расчетах учитывали:

- стоимость оперативного пособия и фактические затраты на расходные материалы для операции (согласно калькуляции стоимости лечения);
- фактические затраты на антибиотики (по листам назначений),
- фактические затраты на другие медикаменты, плазму крови, кровь и ее компоненты (согласно калькуляции стоимости лечения);
- фактические затраты на расходные материалы и средства ухода в клиническом отделении и ОРИТ (согласно калькуляции стоимости лечения);
- фактические затраты на все медицинские услуги: диагностические исследования (лабораторные и инструментальные), консультации, лечебные процедуры и манипуляции (согласно калькуляции стоимости лечения);
- фактические немедицинские затраты на пребывание в стационаре (согласно калькуляции стоимости лечения).

Данные по средней «стоимости заболевания» для ППИ после ЭП ТБ и КС представлены в таблице 7.4. Средняя «стоимость заболевания» при удалении эндопротеза на 26,5% больше ($p<0,01$), чем при его сохранении. При этом, в группе пациентов, которым выполняли удаление эндопротеза достоверно выше

были фактические затраты на оперативное пособие, антибиотики и другие лекарственные средства, а также на пребывание в ОРИТ. Затраты на прочие медицинские услуги (включающие клинико-диагностические процедуры, перевязки, лабораторное обследование, консультации специалистов и др.) и предоставление койко-дня в палате различались незначительно.

Таблица 7.4

Средняя стоимость основных затрат (рублей) стационара на купирование инфекционного процесса при ППИ после ЭП ТБ и КС

Основные затраты	Группа I (ЭП удален)		Группа II (ЭП сохранен)	
	Мср, руб	±ДИ 95%	Мср, руб	±ДИ 95%
Средняя «стоимость заболевания»	139 262,2**	8809,3	110 120,7	32854,9
Оперативное пособие и расходные материалы для операции	52 472,4**	4971,9	33 781,0	13827,4
Медикаменты, кроме АБ	7 220,7**	1556,3	6 008,6	3180,2
Антибиотики	10 931,9**	1921,1	8 883,7	4967,4
Затраты на пребывание ОРИТ	6 918,8**	907,4	5 577,4	3200,1
Прочие медицинские услуги и предоставление койко-дня в палате	61 718,4	7027,7	55 870,0	17253,6

** – $p < 0,01$

Структура «стоимости заболевания» представлена на рисунке 7.15. Как видно из приведенных данных, структура затрат не зависела от вида ревизионного вмешательства. При этом на лекарственную терапию в общей доле расходов пришлось только 13 и 13,6% затрат, при этом более половины составили затраты на антибактериальную терапию: 60,2 и 59,7% в I и II

группах, соответственно. Основные затраты приходятся на обеспечение оперативного пособия, прочие медицинские услуги, включающие пребывание пациента в стационаре и диагностические исследования

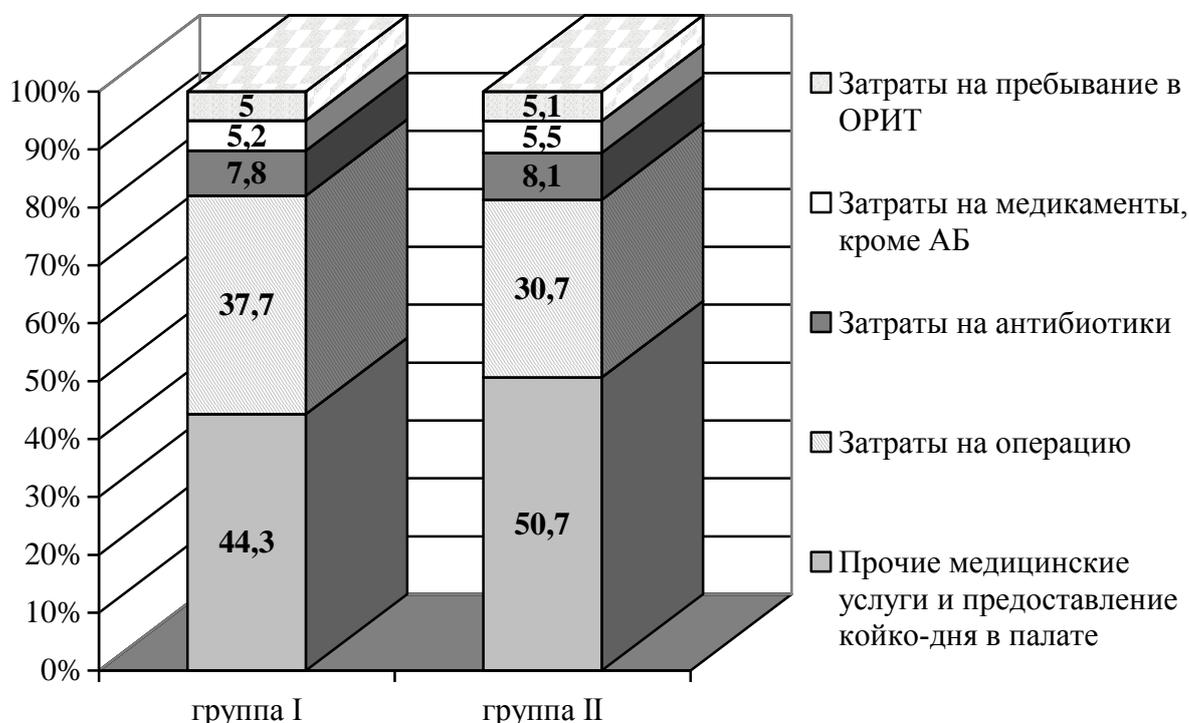


Рисунок 7.15. Структура «стоимости заболевания» у пациентов с сохранением (группа I) и удалением ЭП (группа II)

Наиболее часто назначаемым дорогостоящим антибиотиком был ванкомицин, который в составе стартовой парентеральной терапии применяли у 52,1 и 28,0% в I и II группе, соответственно ($p > 0,05$), чаще всего при этом назначали его комбинацию с ципрофлоксацином в 66,7 и 42,8%, соответственно. В остальных случаях базовым препаратом был бета-лактамыный антибиотик (амксициллин/клавуланат или ампициллин/сульбактам) или ципрофлоксацин. В состав комбинаций входили также рифампицин, амикацин, ко-тримоксазол и доксициклин. Существенных отличий между группами по частоте их назначения установлено не было. Обращало на себя внимание, что в группе I у 25 пациентов с ППИ, обусловленной MS-стафилококками для парентеральной терапии назначали

комбинацию ванкомицина, что по нашему мнению не являлось рациональным и требовало дополнительного анализа, результаты которого будут представлены в разделе 7.2.3 настоящей главы.

В качестве критерия показателя эффективности санирующей операции был принят процент пациентов, у которых в течение года после санирующей операции не было рецидива инфекционного процесса. Как мы видим в таблице 7.5, коэффициент СЕА для первой группы составил 1934,2, а для второй – 1336,4, подтверждая тем самым полученные ранее результаты об увеличении финансовых затрат при выполнении пациенту с ППИ санирующей операции с удалением эндопротеза и установкой цементного спейсера (табл. 7.5).

Таблица 7.5

Данные расчета «затраты-эффективность» при выполнении ревизионных операций по поводу ППИ после эндопротезирования ТБС и КС: с удалением ЭП (группа I), с сохранение ЭП (группа II)

Группы, n = 100	Затраты (DC), руб.	Клиническая эффективность (Ef),%	Коэффициент «затраты- эффективность», (СЕА)
I группа, n = 75	139 262	72,0	1934,2
II группа, n = 25	110 120	82,4	1336,4

7.2.2. Результаты клинико-экономической оценки эффективности санирующей операции с удалением эндопротеза у пациентов с ППИ в зависимости от характера возбудителя

В данном разделе представлены результаты анализа финансовых затрат на санирующие операции с удалением эндопротеза в зависимости от наличия метициллинорезистентности (MR) у штаммов-возбудителей. Как видно из таблицы 7.6, инфекция, вызванная метициллинорезистентными штаммами

стафилококков, приводит к увеличению на 48,1% ($p < 0,05$) финансовых затрат на антибиотики: 9 386,0 и 13 900,8 в MS- и MR-группе, соответственно.

Таблица 7.6

Средняя стоимость основных затрат (рублей) стационара на купирование инфекционного процесса при ППИ после ЭП ТБ и КС

Основные затраты	MS-группа, n=49		MR-группа, n=26	
	Мср, руб	±ДИ 95%	Мср, руб.	±ДИ 95%
Средняя «стоимость заболевания»	145 060,7	10062,0	140 268,9	16268,3
Оперативное пособие и расходные материалы для операции	52 900,4	4601,4	52 857,9	11806,7
Медикаменты, кроме АБ	8 581,1	2183,8	7 125,2	2815,4
Антибиотики	9 386,0*	2245,1	13 900,8	3006,1
Затраты на пребывание ОРИТ	7 465,8	1955,2	6479,5	1158,7
Прочие медицинские услуги и предоставление койко-дня в палате	66 727,4	4601,3	59 905,5	6624,5

* – $p < 0,05$

При этом затраты на оперативное пособие, другие медикаменты, пребывание в ОРИТ и прочие услуги не различались. В структуре «стоимости болезни» затраты на антимикробные препараты занимают лишь 7,8%, в связи с чем, средняя «стоимость заболевания» не зависела от участия в этиологии инфекции MR-штаммов и составила 145 060,7 руб. (ДИ 95%: 134 998,7–155 122,7) при инфекции вызванной штаммами *Staphylococcus* spp., чувствительными к метициллину (MS), и 140 268,9 руб. (ДИ 95%: 124 00,6–156 53,2) в случае MR-возбудителей.

Различия в частоте рецидивов в сопоставляемых группах были незначительны: в MS-группе частота рецидивов составила 24,5% (12 из 49), в

MR-группе – 34,6% (9 из 26). Однако, расчет коэффициента «затраты-эффективность» показал (табл. 7.7), что лечение инфекции, вызванной метициллинорезистентными стафилококками является более затратным (CEA=2218,0), чем в случае метициллиночувствительных возбудителей (CEA=1857,9).

Таблица 7.7

Данные расчета «затраты - эффективность» при выполнении saniрующей операции с удалением эндопротеза и установкой спейсера в зависимости от участия в этиологии инфекции метициллинорезистентных стафилококков

Группы, n = 75	Затраты (DC), руб.	Клиническая эффективность (Ef),%	Коэффициент «затраты- эффективность», (CEA)
MS-группа, n = 49	140 269	75,5	1857,9
MR-группа, n = 26	145 060	65,4	2218,0

7.2.3 Результаты клинико-экономической оценки эффективности saniрующей операции с установкой спейсера у пациентов с ППИ в зависимости от характера стартовой антибактериальной терапии

В данном разделе изложены результаты анализа финансовых затрат ЛПУ на лечение пациентов с ППИ, вызванной MS-стафилококками, которым в отделении гнойной хирургии выполнена saniрующая операция с удалением эндопротеза и установкой спейсера, в зависимости от характера стартовой антимикробной терапии: группа АБТ-1 – бета-лактамы антибиотики (ампициллин/сульбактам или амоксициллин/клавуланат) с цiproфлоксацином, группа АБТ-2 – ванкомицин с цiproфлоксацином. Как видно из таблицы 7.8, общая стоимость затрат на антибиотики в исследуемых группах составила: 5 411,4 руб. и 8 073,1 руб. в группах АБТ-1 и -2, соответственно. При этом фактические затраты на

антибактериальные препараты при стартовой терапии с применением ванкомицина были существенно выше в сравнении с группой сравнения ($p < 0,001$). Несмотря на то, что затраты на оперативное пособие, другие медикаменты, пребывание в ОРИТ и прочие услуги не различались, средняя «стоимость болезни» в группе АБТ-1 была существенно меньше, чем в группе АБ-2 ($p < 0,05$) и составила 125 275,8 (ДИ 95%: 114 539,5–136 012,1) руб. в сравнении с 144 917,7 (ДИ 95%: 131 752,3–158 083,0) руб.

Таблица 7.8

Средняя стоимость основных затрат (рублей) стационара на купирование инфекционного процесса при ППИ после ЭП ТБ и КС при разном режиме стартовой АБТ

Основные затраты	группа АБ-1, n=25		группа АБ-2, n=24	
	Мср, руб	±ДИ 95%	Мср, руб.	±ДИ 95%
Средняя «стоимость заболевания»	125 275,8*	10736,3	144 917,7	13165,3
Оперативное пособие и расходные материалы для операции	51 263,4	7260,6	57 918,6	6551,1
Медикаменты, кроме АБ	5 532,3	2014,3	8 073,1	3444,2
Антибиотики	5 411,4**	1385,8	13 071,8	2382,0
Затраты на пребывание ОРИТ	5 415,9	5648,9	7 029,8	2254,8
Прочие медицинские услуги и предоставление койко-дня в палате	57 652,8	9309,6	58 824,5	10666,5

* – $p < 0,05$ в сравнении с группой АБ-2

** – $p < 0,01$ в сравнении с группой АБ-2

Различия в частоте рецидивов в сопоставляемых группах были незначительны: в группе АБТ-1 – 9,5%, в группе АБТ-2 – 11%. Как видно из

таблицы анализ «затрат-эффективность» показал (табл. 7.9), что использование схемы «бета-лактамы с ципрофлоксацином» более эффективно для стартовой терапии ППИ (СЕА 1364,3), в сравнении с более дорогостоящей схемой с применением ванкомицина, которая при этом не приводит к увеличению эффективности (СЕА 1628,3).

Таблица 7.9

Данные расчета «затраты-эффективность» при выполнении санирующей операции с удалением эндопротеза и установкой спейсера в зависимости от стартовой антибактериальной терапии

Группы,	Затраты (DC), руб.	Клиническая эффективность (Ef),%	Коэффициент «затраты- эффективность», (СЕА)
Группа АБ-1, n=25	125 275,8	90,5	1384,3
Группа АБ-2, n=24	144 917,7	89	1628,3

7.2.4. Результаты клинико-экономической оценки эффективности санирующей операции у пациентов с ППИ в зависимости от локального использования антимикробной композиции

В данном разделе проведен клинико-экономический анализ эффективности локального интраоперационного применения антимикробной композиции (АМК). Всем пациентам (n=112) были выполнены санирующие операции с удалением эндопротеза и установкой спейсера по поводу ППИ стафилококковой этиологии после эндопротезирования ТБС или КС в отделении гнойной хирургии в период 2012–2013 гг. Основную группу (группа АМК) составили 41 пациент, которым в ходе операции дополнительно помимо обработки раны стандартными антисептиками (хлоргексидин, лавасепт), было выполнено орошение тканей в

глубине операционной раны антимикробной композицией, содержащей гентамицин и диоксидин в разрешенных для системного применения дозировках. Ранее была показана *in vitro* и *in vivo* его высокая активность в отношении *Staphylococcus spp.*, в том числе полирезистентных штаммов. Контрольную группу составили 75 пациентов (I группа), которым обработку операционной раны проводили только стандартными антисептиками по общепринятой методике. Группы не различались по половозрастному составу, локализации инфекционного очага и сопутствующей патологии. Большинство пациентов из группы АМК (64,7%) перенесли ранее санирующие операции по поводу инфекционного процесса в области оперированного сустава (табл. 7.10) в сравнении с 31,1% пациентов в I группе ($p < 0,01$). Кроме того, существенные различия ($p < 0,05$) установлены во времени существования инфекции у пациентов I группы в сравнении с группой АМК: медианы составили 1,3 и 16 месяцев, соответственно. Средний койко-день составил 25,3 (ДИ 95%: 23,5–27,1) сут. и 26,9 (ДИ 95%: 22,3–31,3) сут. для I группы и группы-АМК, соответственно, послеоперационный койко-день также значимо не различался: 15,3 (ДИ 95%: 14,1–16,5) сут. и 16,7 (ДИ 95%: 13,9–19,5) сут.

Таблица 7.10

Общая характеристика пациентов с ППИ в зависимости от локального применения антимикробной композиции

Характеристики	Группа I n=75	Группа АМК n=41	p
Возраст, лет, Me (25–75% IQR)	57 (52–66)	51 (40–65)	>0,05
Женщин, %	66,7	53,3	>0,05
Инфекция в области ТБС, %	68,0	83,3	>0,05
Системные заболевания (РА, СКВ), %	8,0	8,2	>0,05
Гипертензия, %	66,7	62,8	>0,05
Риск ССО 3 и выше, %	52,0	48,5	>0,05
ИМТ, кг/м ² , Me (25–75% IQR)	26,3 (24,5–32,4)	26,9 (24,3–28)	>0,05
Патология дыхательной системы, %	14,7	14,3	>0,05

Продолжение таблицы 7.10.

Инфекция МВП, %	12,0	5,9	>0,05
Диабет, %	12,0	5,9	>0,05
Патология ЖКТ, %	40,0	52,9	>0,05
Анемия при поступлении, %	58,7	41,2	>0,05
Гипопротеинемия при поступлении, %	16,0	23,5	>0,05
Две и более предшествующих операции, %	67,7	82,4	>0,05
Наличие saniрующих операций в анамнезе, %	31,1	64,7	<0,01
Время существования инфекции, мес., Me (25–75% IQR)	1,3 (0,5–15)	16 (1–24)	<0,05
Монобактериальная, %	58,7	43,3	>0,05
Ассоциация с Gr(–), %	43,7	50	>0,05
MR штаммы	34,7	26,7	>0,05
<i>S. aureus</i>	66,2	66,7	>0,05
MR среди <i>S. aureus</i>	16,3	25,0	>0,05
MR среди <i>S. epidermidis</i> , %	64,0	50,0	>0,05
Рецидив в течение 1 года, %	28	12,2	>0,05

Как видно из таблицы 7.11, общая стоимость затрат на антибиотики в исследуемых группах различалась несущественно и составила: 10591 руб. и 12179,6 руб. в группах I и АМГ, соответственно. Другие категории затрат (на оперативное пособие, другие медикаменты, пребывание в ОРИТ и прочие услуги) между сопоставляемыми группами существенно не различались, средняя «стоимость болезни» в группе I составила 138 605,6 (ДИ 95%: 128 411,8–148 799,5), в группе АМГ – 150 001,0 руб. (ДИ 95%: 135 082,7–164 919,3). Рецидив глубокой ИОХВ в течение года после saniрующей операции развился у 12,2% пациентов, которым интраоперационно в комплексе с антисептиками был введен антиминокробный гель и у 28% пациентов контрольной группы, однако, различия были недостоверны (табл. 7.11).

Средняя стоимость основных затрат (рублей) стационара на saniрующий этап лечения инфекционного процесса при ППИ после ЭП ТБ и КС при локальном применении АМК

Основные затраты	Группа I, n=75		группа АМК, n=41	
	Мср, руб	±ДИ 95%	Мср, руб	±ДИ 95%
Средняя «стоимость заболевания»	138 605,6	10193,9	150 001,0	14918,3
Оперативное пособие и расходные материалы для операции	50 961,2	6178,5	59 451,5	6232,4
Медикаменты, кроме АБ	7 772,8	1902,9	9 112,1	4043,0
Антибиотики	10 591,0	2301,9	12 179,6	2279,6
Затраты на пребывание ОРИТ	7 104,9	1677,0	7 188,5	1520,5
Прочие медицинские услуги и предоставление койко-дня в палате	50 961,2	5856,2	59 451,5	10482,7

Однако, анализ «затрат-эффективность» показал (табл. 7.12), что локальное применение антимикробного геля было более эффективно (СЕА 1708,4), в сравнении со стандартным ходом оперативного вмешательства (СЕА 1934,2).

Таблица 7.12

Данные расчета «затраты-эффективность» при выполнении saniрующей операции с удалением эндопротеза и установкой спейсера в зависимости от интраоперационного локального применения АМК

Группы	Затраты (DC), руб.	Клиническая эффективность (Ef), %	Коэффициент «затраты-эффективность», (СЕА)
Группа I, n=75	139 262	72%	1934,2
Группа АМК, n=41	150 001	87,8%	1708,4

Клинический пример 1. Пациент П. 1947 г. р. поступил в клинику в марте 2013 года с диагнозом: Асептическая нестабильность компонентов ЭП после ревизионного эндопротезирования левого тазобедренного сустава в январе 2007 года (рис. 7.16). Масса тела пациента 77 кг. Лабораторно: СРБ – 8,95 мг/л, СОЭ 6 мм/ч, количество лейкоцитов $7,2 \cdot 10^9$ /л. При бактериологическом исследовании из дооперационного аспирата из области левого тазобедренного сустава был выявлен рост *S. epidermidis* (MRSE). В связи с этим был установлен диагноз: хроническая глубокая инфекция области хирургического вмешательства после ревизионного эндопротезирования левого тазобедренного сустава в январе 2007 года (перипротезная инфекция III типа).

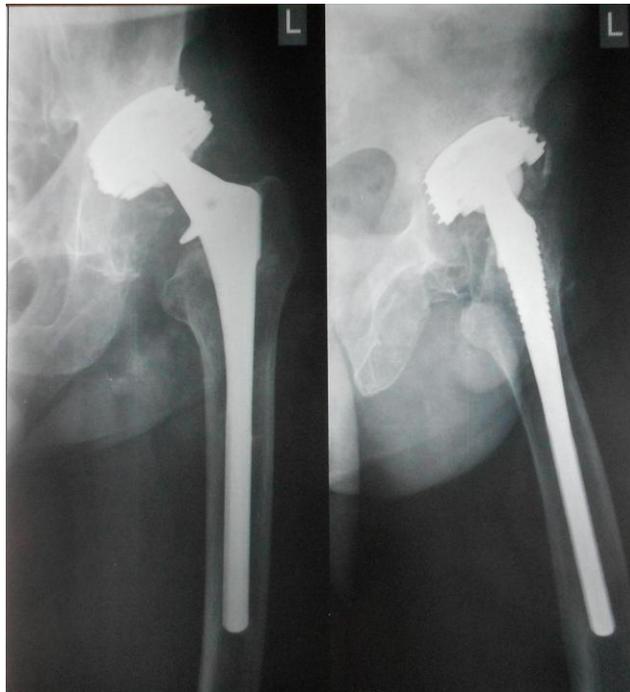


Рисунок 7.16. Рентгенограмма левого тазобедренного сустава пациента П. при поступлении для ревизионного эндопротезирования

В дооперационном периоде при планировании антибактериальной терапии принято решение: назначить системную антибактериальную терапию, комбинацию ванкомицина (15 мг/кг 2 раза в сутки, что составило 1,0 г 2 раза в сутки на 200,0 мл 0,9%р-ра NaCl в/в капельно медленно) и ципрофлоксацина (0,6 г 2 раза в сутки в/в капельно) до получения результатов бактериологического

исследования тканевых биоптатов и удаленных компонентов эндопротеза; для локальной эмпирической терапии в составе костного цемента применить помимо гентамицин-содержащего спейсера разработанную антимикробную полимерную композицию с гентамицином и диоксидином. 24.04.2013 под регионарной анестезией произведена артротомия и удалены бедренный и вертлужный компоненты эндопротеза, выполнена санация гнойного очага. Интраоперационно приготовили цементный спейсер из гентамицин-содержащего костного цемента для вертлужной впадины и бедренный компонент на основе подобранной стерильной ножки ЭП. После тщательной механической обработки костной ткани и промывания операционной раны антисептиком один компонент спейсера установили в дефект вертлужной впадины, другой – в дефект бедренной кости с цементной фиксацией (рис. 7.17). Рану ушили наглухо. Установили 2 дренажа.

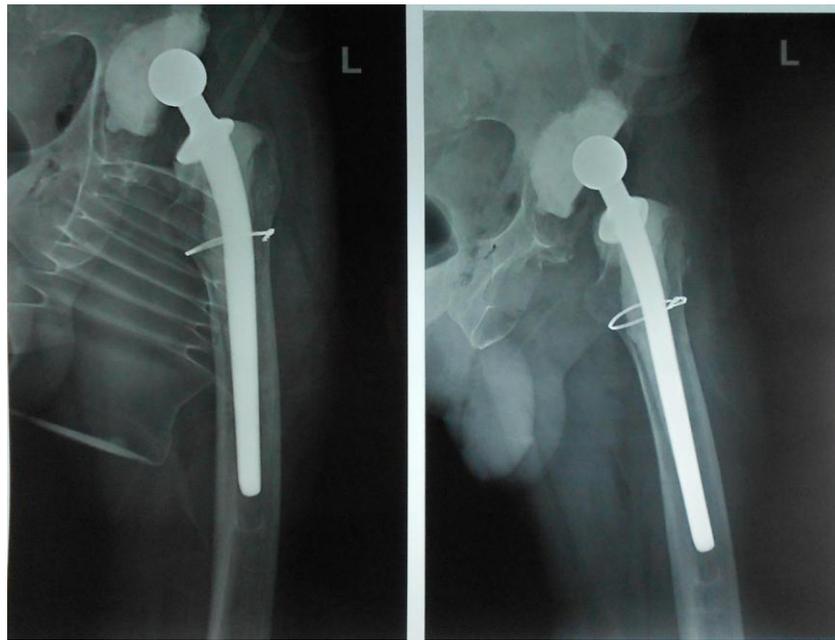


Рисунок 7.17. Рентгенограмма левого тазобедренного сустава пациента П. после установки артикулирующего спейсера

На 2 сутки послеоперационного периода (перед введением 4-й дозы препарата) был выполнен терапевтический лекарственный мониторинг (ТЛМ) ванкомицина – его остаточная концентрация составила 12,1 мкг/мл, что несколько ниже рекомендуемых значений (15–20 мкг/мл), однако, с учетом возраста

пациента и повышенным риском развития нарушений функции почек, дозу ванкомицина оставили прежней. Дренажи удалены на 5 сутки. Из тканевых биоптатов и удаленных компонентов эндопротеза, отправленных на бактериологическое исследование выделена микробная ассоциация *S. epidermidis* (MRSA с благоприятным профилем чувствительности) и *P. acnes* (штамма, чувствительного к ванкомицину). Системную терапию проводили в прежнем объеме до 12 суток, далее пациенту назначили комбинированную терапию на 4 недели: таб. ципрофлоксацина 0,5 г 2 раза в сутки, капс. рифампицина 300 мг 2 раза в сутки внутрь. Рана зажила первичным натяжением. Швы сняты на 13 сутки. Пациенту рекомендована ходьба с частичной нагрузкой на оперированную конечность. Достигнуто купирование инфекционного процесса. Пациент выписан на 14 сутки после операции, с рекомендациями продолжать антибактериальную терапию. Лабораторно при выписке: СРБ – 11,73 мг/л, СОЭ 38 мм/ч, количество лейкоцитов $9,4 \cdot 10^9$ /л.

Через 9 месяцев поступил для выполнения второго этапа двухэтапного ревизионного эндопротезирования. Бактериологическое исследование дооперационного аспирата не выявило роста микроорганизмов. 12.12.2013 г. была выполнена операция по удалению спейсера и установке эндопротеза (рис. 7.18). Курс комбинированной антибактериальной терапии назначали с учетом выделенных на I этапе хирургического лечения возбудителей: ампициллин/сульбактам (1,5*3 раза в сутки в/в капельно) 10 сут с дальнейшим переходом на таблетки амоксициллин/клавуланат (по 1 г 2 раза в сутки) 4 недели и капс. рифампицин по 300 мг 2 раза в сутки внутрь 6 недель. На 10 сутки после операции был получен результат бактериологического исследования тканевых биоптатов – рост микроорганизмов не выявлен. Швы сняты на 11 сутки. Пациент выписан на 12 сутки после операции. Рецидива инфекции при дальнейшем наблюдении не выявлено.



Рисунок 7.18. Рентгенограмма левого тазобедренного сустава пациента П. после 2-го этапа хирургического лечения ППИ ревизионного эндопротезирования

7.2.5. Результаты клинико-экономической оценки эффективности санирующей операции у пациентов с ППИ в зависимости от добавленного в костный цемент антибиотика

В данном разделе проведен клинико-экономический анализ эффективности локального интраоперационного применения ванкомицина и фосфомицина в составе костного цемента для установки спейсера. Для исключения возможного влияния локализации дефекта и размера устанавливаемого спейсера на эффективность лечения в исследуемые группы включали пациентов (n=111), которым в отделении гнойной хирургии в период 2014–2015 гг. были выполнены санирующие операции с удалением эндопротеза и установкой спейсера по поводу ППИ стафилококковой этиологии в области тазобедренного сустава. Кроме того, учитывали объем костных дефектов по классификации Paprosky W.G. и количество используемого цемента. Основную группу (КЦ-фосфо) составили 23 пациента, которым в ходе операции был установлен спейсер из костного цемента, импрегнированного 8,0 г фосфомицина (на 80 г цемента), что составляет 50% от

максимальной суточной дозы, разрешенной к системному применению. В разделе 5.4 главы 5 было показано, что образцы с фосфомицином демонстрируют большую длительность антимикробной активности в отношении штаммов MSSA и грамотрицательных бактерий в сравнении с образцами с ванкомицином. Группу сравнения составили 88 пациентов (группа КЦ-ванко), которым устанавливали спейсер с 4,0 г ванкомицина (на 80 г цемента), которая является максимальной суточной дозой, разрешенной для системного применения.

Исследуемые группы не различались по половозрастному составу, локализации инфекционного очага, объему костных дефектов и количеству используемого костного цемента (табл. 7.13). Время существования инфекции в обеих группах было сопоставимо: 34 (25–75% IQR 6–97) и 45 (25–75% IQR 9–88) для групп КЦ-ванко и -фосфо, соответственно. Около трети пациентов в обеих группах перенесли ранее saniрующие операции по поводу инфекционного процесса в области оперированного сустава.

Таблица 7.13

Общая характеристика пациентов с ППИ в группах с применением ванкомицина и фосфомицина в составе КЦ

Характеристики	группа КЦ-ванко n=88	группа КЦ-фосфо n=23	p
Возраст, лет, Me (25–75% IQR)	59 (52–66)	63 (40–65)	>0,05
Женщин, %	50	47,8	>0,05
Инфекция в области ТБС, %	100	100	>0,05
Системные заболевания (РА, СКВ), %	3,2	6,1	>0,05
Патология ССС, %	40,2	48,5	>0,05
ИМТ, кг/м ² , Me (25–75% IQR)	28,6 (24,5–31,2)	27,9 (25,3–28,4)	>0,05
Патология дыхательной системы, %	18,1	24,2	>0,05
Инфекция МВП, %	18,1	3,0	>0,05
Диабет, %	13,8	9,1	>0,05
Патология ЖКТ, %	81,9	84,8	>0,05
Анемия при поступлении, %	34,1	56,5	<0,05
Гипопротеинемия при поступлении, %	17,1	23,8	>0,05

Продолжение таблицы 7.13.

2 и более операции в анамнезе, %	30,6	26,1	>0,05
Наличие saniрующих операций в анамнезе, %	33,1	34,8	>0,05
Время существования инфекции, мес., Me (25–75% IQR)	20 (4–78)	44 (4–124)	>0,05
Монобактериальная, %	51,1	43,5	>0,05
Ассоциация с Gr(–), %	19,3	21,7	>0,05
MR-штаммы	37,5	60,9	<0,05
<i>S. aureus</i>	48,9	56,5	>0,05
MR среди <i>S. aureus</i>	18,6	38,5	<0,05
MR среди <i>S. epidermidis</i> , %	64,0	90,0	>0,05
Количество используемого костного цемента, г, Me (25–75% IQR)	120 (60–180)	120 (80–160)	>0,05
Дефект ВВ Paprosky W.G. IIIA–IIIB	11,4	21,7	>0,05
Дефект БК Paprosky W.G. 3–4	38,6	43,5	>0,05
Рецидив инфекции для всей выбоки, %	27,3	21,7	>0,05
Рецидив инфекции при выделении микробных ассоциаций, %	32,6	23,0	>0,05

Выраженные дефекты вертлужной впадины IIIA–IIIB по Paprosky W.G. в 2 раза чаще встречались в группе КЦ-фосфо (21,7 и 11,4%), однако, различия не были статистически значимыми. У пациентов, которым ставили импрегнированный фосфомицином спейсер, значимо чаще ($p < 0,05$) причиной ППИ были метициллинорезистентные штаммы стафилококков, в целом, и MRSA, в частности.

Средняя «стоимость болезни» в группе КЦ-ванко составила 171 846,8 (ДИ 95% 146 524,5–197 169,0), в группе КЦ-фосфо – 165 573,90 (ДИ 95% 80141,3–251006,4). Различий в финансовых затратах по различным категориям не установлено, к примеру, стоимость затрат на антибиотики в исследуемых группах составила: 17 006,6 руб. (ДИ 95% 11471,8–24 541,3) и 16 414,6 руб. (ДИ 95% 9006,9–23 822,3) в группах КЦ-ванко и КЦ-фосфо, соответственно.

Рецидив ППИ в течение года после saniрующей операции развился у 21,7% пациентов, которым был установлен спейсер из костного цемента импрегнированного фосфомицином, и у 27,3% пациентов контрольной группы, ($p > 0,05$). Расчет коэффициента СЕА показал, что (табл. 7.14), что локальное применение спейсера импрегнированного фосфомицином было более эффективно (СЕА 2114,6), в сравнении с применением в составе костного цемента ванкомицина (СЕА 2363,8).

Таблица 7.14

Данные расчета «затраты-эффективность» при выполнении saniрующей операции с удалением эндопротеза и установкой спейсера импрегнированного ванкомицином или фосфомицином

Группы	Затраты (DC), руб.	Клиническая эффективность (Ef), %	Коэффициент «затраты-эффективность», (СЕА)
КЦ-ванко, n=88	171 846	72,7%	2363,8
КЦ-фосфо, n=23	165 573	78,3%	2114,6

У пациентов с ППИ, обусловленной микробными ассоциациями, частота рецидива инфекции была отмечена в 32,6% случаев при использовании ванкомицина и в 23% случаев при применении в составе костного цемента фосфомицина. В то время как ранее в разделе 3.5 главы 3 было показано, что у пациентов ретроспективной группы с ППИ полимикробной этиологии при участии представителей *Staphylococcus* spp., которых лечили до внедрения разработанной системы оптимизации антибактериальной терапии, рецидивы инфекции были установлены в 52,9%, что значительно выше частоты рецидивов в группах КЦ-ванко и КЦ-фосфо ($p < 0,05$).

Клинический пример 2. Пациент А. 1966 г. р. поступил в клинику в сентябре 2014 года с диагнозом: хроническая глубокая инфекция области

хирургического вмешательства после ревизионного эндопротезирования правого тазобедренного сустава в мае 1999 года (перипротезная инфекция I типа). В анамнезе две saniрующие операции, последняя – в августе 2014 г. (по поводу флегмоны в области правого бедра, эндопротез был сохранен), неоднократные курсы массивной антибактериальной терапии. Масса тела пациента 74 кг. Лабораторно при поступлении: СРБ – 14,92 мг/л, СОЭ 39 мм/ч, количество лейкоцитов $7,5 \cdot 10^9$ /л. По результатам фистулографии – свищевой ход проникал в полость сустава (рис. 7.19).

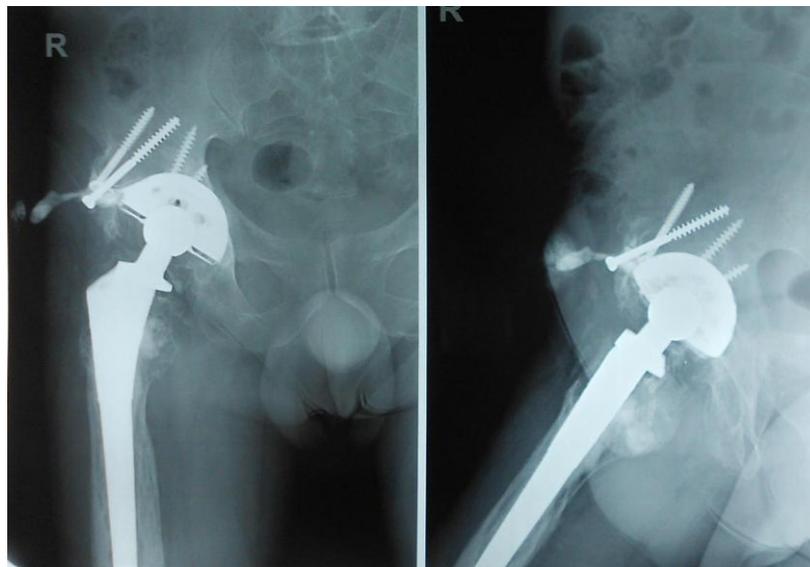


Рисунок 7.19. Рентгенограмма фистулографии пациента А.

Дооперационный посев аспирата из области правого тазобедренного сустава роста не дал. В дооперационном периоде при планировании антибактериальной терапии принято решение: назначить системную эмпирическую антибактериальную терапию, комбинацию ванкомицина (15 мг/кг 2 раза в сутки, что составило 1,0 г 2 раза в сутки на 200,0 мл 0,9% р-ра NaCl в/в капельно медленно) и ципрофлоксацина (0,6 г 2 раза в сутки в/в капельно), до получения результатов интраоперационного посева; для локальной эмпирической терапии в составе костного цемента применить фосфомицин. 18.09.2014 под регионарной анестезией произведена артротомия и удалены бедренный и вертлужный компоненты эндопротеза, выполнена санация гнойного очага. Интраоперационно порошок компонент костного цемента, содержащего гентамицин, смешали с

лиофилизированной формой фосфомицина в пропорции 10 масс.% (8 г антибиотика на 80 г цемента). Далее полученную сухую смесь перемешали согласно инструкции по применению с жидким компонентом костного цемента, из одной части сформировали вертлужный компонент необходимой формы, другую часть использовали для фиксации бедренного компонента артикулирующего спейсера. После тщательной механической обработки костной ткани и промывания операционной раны антисептиком один компонент спейсера установили в дефект вертлужной впадины, другой – в дефект бедренной кости (рис. 7.20). Рану ушили наглухо. Установили 3 дренажа.



Рисунок 7.20. Рентгенограмма правого тазобедренного сустава пациента А. после установки артикулирующего спейсера с использованием фосфомицина в составе костного цемента

На 2 сутки послеоперационного периода (перед введением 4-й дозы препарата) был выполнен терапевтический лекарственный мониторинг (ТЛМ) ванкомицина – его остаточная концентрация составила 5,1 мкг/мл, что значительно ниже рекомендуемых значений (15–20 мкг/мл). Дозу ванкомицина увеличили до максимальной – 2,0 г 2 раза в сутки (с учетом достаточно молодого возраста пациента и нормальной функции почек). Контрольный ТЛМ через 2 суток показал увеличение остаточной концентрации до 7 мкг/мл. Несмотря на недостижение целевых значений концентрации ванкомицина, дозу оставили прежней. Контроль уровня креатинина крови выполняли 1 раз в 3 дня. Снижения

функции почек на фоне максимальной дозы ванкомицина отмечено не было. Дренажи удалены на 7 сутки. Из тканевых биоптатов и удаленных компонентов эндопротеза, отправленных на бактериологическое исследование выделена микробная ассоциация MRSE (штамм, чувствительный к ванкомицину, линезолиду, фосфомицину, ципрофлоксацину, эритромицину и рифампицину) и *Propionibacterium* sp. Системную терапию проводили в прежнем объеме до 12 суток, далее пациенту назначили комбинированную терапию на 8 недель: таб. ципрофлоксацина 0,5 г 2 раза в сутки, капс. рифампицина 300 мг 2 раза в сутки внутрь. Рана зажила первичным натяжением. Швы сняты на 14 сутки. Пациенту рекомендована ходьба с частичной нагрузкой на оперированную конечность. Достигнуто купирование инфекционного процесса. Пациент выписан на 15 сутки после операции, с рекомендациями продолжать антибактериальную терапию и контролировать АЛТ 1 раз в месяц. Лабораторно при выписке: СРБ – 7,24 мг/л, СОЭ 48 мм/ч, количество лейкоцитов $10,4 \cdot 10^9$ /л.

Через 5 месяцев поступил для выполнения второго этапа двухэтапного ревизионного эндопротезирования. 16.01.2015 г. была выполнена операция по удалению спейсера и установке эндопротеза правого тазобедренного сустава (рис. 7.21). Курс комбинированной антибактериальной терапии назначали с учетом выделенных ранее возбудителей: ципрофлоксацин (0,6*2 раза в сутки в/в капельно 10 сут с дальнейшим переходом на таблетки по 0,5 г 2 раза в сутки 4 недели) и капс. рифампицин по 300 мг 2 раза в сутки внутрь 6 недель. На 10 сутки после операции был получен результат бактериологического исследования тканевых биоптатов – в 1-м из 3-х был обнаружен рост штамма MRSE (штамм, чувствительный к ванкомицину, линезолиду, фосфомицину, эритромицину и рифампицину, резистентный к ципрофлоксацину). Антибактериальную терапию скорректировали: заменили ципрофлоксацин на кларитромицин (0,5 г 2 раза в сутки). Швы сняты на 14 сутки. Пациент выписан на 15 сутки после операции. Рецидива инфекции в течение года после установки эндопротеза не выявлено, что, позволяет предположить успешное купирование хронической рецидивирующей инфекции.



Рисунок 7.21 Рентгенограмма правого тазобедренного сустава пациента А после второго этапа ревизионного эндопротезирования

Клинический пример 3. Пациент С. 1977 г. р. поступил в клинику в сентябре 2014 года с диагнозом: хроническая глубокая инфекция области хирургического вмешательства после тотального эндопротезирования левого тазобедренного сустава в июле 2005 года (перипротезная инфекция III типа). 01.10.2012 манифестация инфекции, неоднократные курсы массивной антибактериальной терапии. Масса тела пациента 88 кг. Лабораторно: СРБ – 26,24 мг/л, СОЭ 67 мм/ч, количество лейкоцитов $9,7 \cdot 10^9$ /л. По результатам фистулографии – свищевой ход проникал в полость сустава (рис. 7.22).

Дооперационный посев аспирата из области левого тазобедренного сустава выявил MSSA. В дооперационном периоде при планировании АБТ принято решение: назначить системную эмпирическую антибактериальную терапию, комбинацию ванкомицина (1,5 г 2 раза в сутки на 200,0 мл 0,9% р-ра NaCl в/в капельно медленно) и ципрофлоксацина (0,6 г 2 раза в сутки в/в капельно), до получения результатов интраоперационного посева; для локальной эмпирической терапии в составе костного цемента применить фосфомицин.

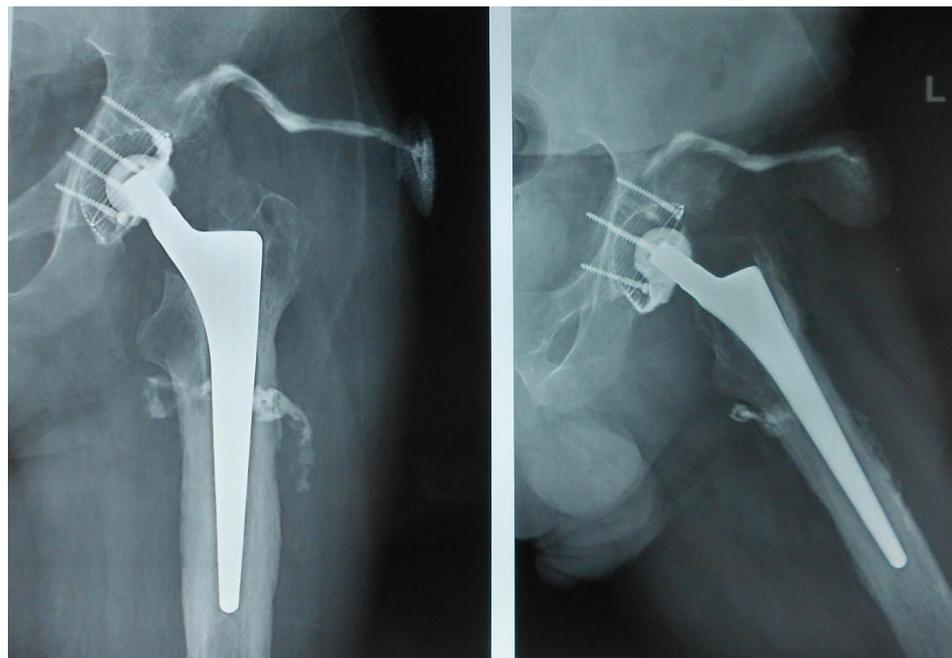


Рисунок 7.22. Рентгенограмма фистулографии пациента С.

Под регионарной анестезией произведена артротомия и удалены бедренный и вертлужный компоненты эндопротеза, выполнена санация гнойного очага. Интраоперационно порошковый компонент костного цемента, содержащего гентамицин, смешали с лиофилизированной формой фосфомицина в пропорции 10 масс.% (8 г антибиотика на 80 г цемента). Далее полученную сухую смесь перемешали согласно инструкции по применению с жидким компонентом костного цемента, из одной части сформировали вертлужный компонент необходимой формы, другую часть использовали для фиксации бедренного компонента артикулирующего спейсера. После тщательной механической обработки костной ткани и промывания операционной раны антисептиком один компонент спейсера установили в дефект вертлужной впадины, другой – в дефект бедренной кости (рис. 7.23). Рану ушили наглухо. Установили 3 дренажа.

На 2 сутки послеоперационного периода (перед введением 4-й дозы препарата) был выполнен терапевтический лекарственный мониторинг (ТЛМ) ванкомицина – его остаточная концентрация составила 7,5 мкг/мл, что значительно ниже рекомендуемых значений (15–20 мкг/мл). Дозу ванкомицина

увеличили до максимальной – 2,0 г 2 раза в сутки (с учетом молодого возраста пациента и нормальной функции почек).



Рисунок 7.23. Рентгенограмма таза пациента С. после установки артикулирующего спейсера левого тазобедренного сустава с использованием фосфомицина в составе костного цемента

Контрольный ТЛМ через 2 суток показал увеличение остаточной концентрации до 14,8 мкг/мл. Дозу ванкомицина оставили прежней. Контроль уровня креатинина крови выполняли 1 раз в 3 дня. Снижения функции почек на фоне максимальной дозы ванкомицина отмечено не было. Дренажи удалены на 7 сутки. На 12 сутки из тканевых биоптатов, отправленных на бактериологическое исследование, выделен штамм MSSA (с благоприятным профилем чувствительности). С 14 суток пациенту назначили комбинированную терапию на 8 недель: таб. ципрофлоксацина 0,75 г 2 раза в сутки, капс. рифампицина 450 мг 2 раза в сутки внутрь. Рана зажила первичным натяжением. Швы сняты на 14 сутки. Пациенту рекомендована ходьба с частичной нагрузкой на оперированную конечность. Достигнуто купирование инфекционного процесса. Пациент выписан на 15 сутки после операции, с рекомендациями продолжать антибактериальную

терапию и контролировать АЛТ 1 раз в месяц. Лабораторно при выписке: СРБ – 12,92 мг/л, СОЭ 69 мм/ч, количество лейкоцитов $6,8 \cdot 10^9$ /л.

Через 6 месяцев поступил для выполнения второго этапа двухэтапного ревизионного эндопротезирования при лечении ППИ. 30.03.2015 г. была выполнена операция по удалению спейсера и установке эндопротеза (рис. 7.24).



Рисунок 7.24. Рентгенограмма таза пациента С. после 2-го этапа ревизионного эндопротезирования левого тазобедренного сустава

Курс комбинированной антибактериальной терапии назначали с учетом выделенных на I этапе хирургического лечения возбудителей: ампициллин/сульбактам (1,5*3 раза в сутки в/в капельно) 10 сут с дальнейшим переходом на таб. амоксициллин/клавуланат (по 1 г 2 раза в сутки) 4 недели и капс. рифампицин по 300 мг 2 раза в сутки внутрь 6 недель. На 11 сутки после операции был получен результат бактериологического исследования тканевых биоптатов – рост микроорганизмов не выявлен. Швы сняты на 11 сутки. Пациент выписан на 12 сутки после операции. Рецидива инфекции в течение года не выявлено, что, с учетом достижения купирования инфекционного процесса после первой saniрующей операции является благоприятным прогностическим признаком.

Таким образом, представленные результаты согласуются с данными экспериментального изучения антимикробной активности образцов гентамицин-содержащего костного цемента (раздел 5.4 главы 5), которые при добавлении фосфомицина значимо увеличивали продолжительность антимикробной активности в отношении грамотрицательных бактерий и штаммов MSSA (17–28 суток), подавляя рост MRSA только в течение 5 суток, незначительно превосходя при этом образцы с ванкомицином (2–3 суток). Таким образом, применение фосфомицина для импрегнации костного цемента при установке антимикробного спейсера можно рекомендовать при проведении эмпирической терапии и у пациентов с ППИ полимикробной этиологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Этиология инфекционных болезней является основой для формирования стратегии и тактики антибактериальной терапии. Однако, несмотря на значительное разнообразие возбудителей, основную группу (около 70% в среднем за исследуемый период), на которую приходится подавляющая часть этиологии глубокой ИОХВ после эндопротезирования тазобедренного или коленного суставов, составляют грамположительные микроорганизмы, из которых 80–89,6% – представители *Staphylococcus* spp.

В результате проведенного исследования было установлено, что основное клиническое значение, как наиболее вирулентный, имеет *S. aureus*, штаммы которого в данном исследовании были изолированы в 65,5% случаев выделения стафилококковой флоры (рис. 3.3). В 25,8% случаев этиология стафилококковой перипротезной инфекции была связана со *S. epidermidis*. Доля других представителей КНС была крайне незначительной: *S. haemolyticus* – 1,7%, *S. warneri* – 1,4%, *S. hominis* – 0,9% от общего количества изолятов стафилококков, вошедших в исследование.

Согласно результатам, полученным в настоящем исследовании, более 80% изолятов *S. aureus*, выделенных от пациентов с перипротезной инфекцией, были резистентны к бензилпенициллину, а, следовательно, и к другим антибиотикам группы пенициллинов. Штаммы *S. epidermidis*, по сравнению с *S. aureus*, характеризовались более высоким ($p < 0,05$) уровнем резистентности к метициллину (в среднем за исследуемый период 56,6% vs. 27,7%). При этом установлена четкая тенденция к снижению частоты выделения MRSA в течение всего периода исследования. Данный показатель существенно снизился с 32,8% в 2007 г до 20,6% в 2014 г ($p < 0,05$). В то же время, для *S. epidermidis* отмечено значимое увеличение метициллинорезистентности с 33,3% в 2007 до 78,3% в 2009 г., которое, соответственно, сопровождалось возрастанием резистентности к препаратам других групп. С 2007 по 2009 гг. почти в 2 раза возросла резистентность изолятов *S. epidermidis* в отношении эритромицина,

ципрофлоксацина, гентамицина, что иллюстрирует высокую перекрестную резистентность штаммов метициллинорезистентных стафилококков к препаратам разных групп. С учетом полученных данных дальнейший анализ динамики антибиотикорезистентности изучаемых изолятов *Staphylococcus* spp. был выполнен отдельно для метициллинорезистентных и -чувствительных штаммов.

Доступные терапевтические возможности для лечения нозокомиальных инфекций, вызванных метициллинорезистентными штаммами, крайне ограничены из-за полирезистентности госпитальных штаммов. Лишь отдельные препараты остаются активными против таких штаммов. В нашем исследовании наибольшую активность продемонстрировали ванкомицин, линезолид, и фосфомицин.

Однако, несмотря на то, что диско-диффузионный метод определения антибиотикочувствительности продемонстрировал высокую активность ванкомицина в отношении всех тестируемых штаммов, определение МИК данного антибиотика показало, что только в отношении 11,9% штаммов MRSA и 9% – MRSE значения МИК ванкомицина не превышали 0,5 мкг/мл. При этом, в отношении 19,2% изолятов MRSA и 35,4% – MRSE, величина МИК ванкомицина составляла не менее 2 мкг/мл. К настоящему времени накоплены данные о существенном снижении эффективности ванкомицина при лечении тяжелых MRSA-инфекций в зависимости от МИК возбудителей: менее 30% при МИК=1 мкг/мл и 8% при МИК=2 мкг/мл (Moise-Broder P. et al. 2004). Таким образом, выявленные в настоящем исследовании данные свидетельствуют о том, что не всегда ванкомицин, во всем мире являющийся препаратом выбора для эмпирической терапии перипротезной инфекции и этиотропной терапии при большинстве инфекций, вызванных MR-стафилококками, может быть эффективен. Следовательно, метод определения МИК ванкомицина у стафилококков необходимо вводить в рутинную практику микробиологических лабораторий и учитывать полученные результаты при выборе препаратов для антибактериальной терапии ППИ.

Данный вывод подтверждают и результаты исследования *in vitro* эффективности сывороточных концентраций антибиотиков и их комбинаций на формирование биопленки и зрелую биопленку 25 изолятов MRSA. Установлено снижение эффекта ванкомицина на планктонные (66,7 vs 87,5%) и сессильные (44,4 vs 62,5%) формы MRSA у штаммов с МИК ванкомицина=2 мкг/мл ($p<0,01$), в сравнении с изолятами с МИК \leq 1,5 мкг/мл. С учетом того, что концентрация данного гликопептида в костной ткани ниже сывороточной, к примеру, S.W. Young с соавторами (2014) приводят данные для губчатой кости – 3,2–4 мкг/г, можно предположить, что системная антимикробная терапия ванкомицином в отношении биопленочных форм возбудителей может быть неэффективна. Это косвенно подтверждают другие исследователи, показавшие, что средняя концентрация ванкомицина в кортикальной кости была 2,66 мкг/мл, в губчатой – 11,53 мкг/мл, при этом средние значения AUC:МИК были 55,15 и 299,16 для кортикальной и губчатой кости, соответственно (Garazzino S. et al., 2008), в то время как в настоящее время рекомендованное значение AUC:МИК (24), при котором АБТ ванкомицином будет эффективна, составляет 400 (Rybak M. et al., 2009). Таким образом, при выделении у пациента штамма стафилококка с МИК=2 мкг/мл необходимо назначение альтернативных антимикробных препаратов.

Кроме того, с учетом особенностей травматолого-ортопедических операций, а именно, установкой имплантата, важное значение имеет и тот факт, что гликопептиды проявляют в отношении стафилококков лишь бактериостатическое действие, что является их существенным недостатком в сравнении с бета-лактамами, которые, должны быть препаратами выбора при лечении перипротезной инфекции, вызванной MS-стафилококками, что отражено в рекомендациях по системной антимикробной терапии, представленных в таблице 6.1 (глава 6).

Установлена высокая активность тестируемых фторхинолонов (моксифлоксацин и ципрофлоксацин) в отношении MS-чувствительных штаммов *S. aureus* (99,2 и 96,5%, соответственно) и *S. epidermidis* (98,5 и 83,5%,

соответственно). Однако около 70% исследованных метициллинорезистентных стафилококков обоих видов продемонстрировали устойчивость к ципрофлоксацину, 50,5% MRSA и 25,8% MRSE – к моксифлоксацину. Таким образом, фторхинолоны не могут быть рекомендованы для эмпирической монотерапии стафилококковой перипротезной инфекции; однако, при инфекциях, вызванных штаммами, чувствительными к метициллину, данные препараты могут рассматриваться в качестве препаратов выбора, причем, предпочтение следует отдавать моксифлоксацину или левофлоксацину, обладающим большей антистафилококковой активностью.

Фосфомицин, обладающий бактерицидным действием в отношении *S. aureus* и *S. epidermidis*, в нашем исследовании показал высокую активность в отношении возбудителей перипротезной инфекции, к нему были устойчивы менее 10% изолятов, включая метициллинорезистентные штаммы. Таким образом, данный препарат можно рассматривать как альтернативу ванкомицину при назначении эмпирической терапии ППИ и этиотропной, особенно при выделении штаммов стафилококков с МИК ванко=2 мкг/мл.

Тетрациклин, клиндамицин, эритромицин и гентамицин были активны в отношении более чем 90% исследованных изолятов MSSA и около 80% – MSSE. Несмотря на это, широкое применение данных препаратов ограничено крайне высокой частотой ассоциированной резистентности к ним MRSA и MRSE. Так, к гентамицину были чувствительны менее трети MR-штаммов, вошедших в исследование, к эритромицину – 52,6 и 38,7%, к клиндамицину – 47,1 и 38,6% ($p < 0,05$) штаммов MRSA и MRSE, соответственно. Таким образом, назначать указанные антибиотики необходимо только в составе комбинированной терапии (табл. 6.1), при их подтвержденной активности в отношении конкретного штамма – возбудителя перипротезной инфекции.

Проведенный анализ частоты выделения стафилококков в составе микробных ассоциаций показал, что за исследуемый период времени 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%. В значительной доле случаев от общего количества ассоциаций (от 37,8 до 67,6%) стафилококки выделяются вместе с грамотрицательными бактериями, как правило, с представителями *Enterobacteriaceae* spp., *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., что необходимо учитывать при выборе препаратов для эмпирической антибактериальной терапии. Это подтверждается также тем, что большинство микробных ассоциаций выделяют из тканевых биоптатов, наименьшее количество – из дооперационных аспиратов: 47,1 и 11,9%. Таким образом, результаты исследования дооперационных аспиратов в ряде случаев (около 40%) не дают представления о полной этиологической картине ППИ. Следовательно, препараты для стартовой парентеральной АБТ должны быть активны в отношении широкого спектра возбудителей ППИ.

Важность роли микробных ассоциаций в этиологии ППИ определяется крайне высокой частотой развития рецидивов инфекции, которая в ретроспективной группе пациентов составила 62,1% у пациентов с полимикробной ППИ и 21% – с монобактериальной стафилококковой инфекцией ($p < 0,01$). Установлено, что в сравнении с монобактериальной инфекцией участие микробных ассоциаций в этиологии ППИ увеличивает риск развития рецидива после установки цементного спейсера более чем в 3 раза у пациентов после первичного эндопротезирования (ОР=3,1; ДИ 95% 1,998–4,816) и более чем в 2,5 раза (ОР=2,6; ДИ 95% 0,992–6,646) – после ревизионного.

Выявленная неоднородность результатов дооперационных и интраоперационных посевов во многом определяется особенностями патогенеза ППИ, а именно – формированием микробных биопленок. В результате скрининга способности 394 клинических штаммов стафилококков к формированию биопленок выявлено, что 40,9% (161) изолятов являлись сильными биопленкообразователями (раздел 4.1 главы 4). При этом, стафилококковые изоляты из тканевых биоптатов и с удаленных ортопедических конструкций характеризовались интенсивной продукцией биопленки почти в половине случаев: 47,2 и 47,8% соответственно, тогда как штаммы, выделенные из

аспирагов, значимо реже ($p < 0,01$) демонстрировали выраженную способность к БПО (31,3%). По-видимому, это связано с тем, что из аспиригов чаще выделяются планктонные формы штаммов, не обладающие достаточной способностью к формированию микробных пленок.

Межвидовой анализ характера распределения стафилококков по способности к БПО и источнику выделения показал (рис. 4.1), что штаммы *S. epidermidis*, выделенные из аспиригов ($p < 0,01$) и с ортопедических конструкций чаще изолятов *S. aureus* характеризуются выраженной способностью к БПО. Соотношение штаммов с разной степенью БПО из числа выделенных из тканевых биоптатов, практически совпадает у изолятов обоих видов. Тот факт, что штаммы *S. epidermidis*, в том числе, изолированные из биологических образцов, проявляют более интенсивное БПО, вероятно, можно объяснить способностью *S. epidermidis* к формированию биопленок, несмотря на отсутствие *ica* оперона в их геноме (O'Gara J.P., Humphreys H. 2001). Некоторым исследователям удалось установить, что у клинически значимых штаммов *S. epidermidis* биопленкообразование является многофакторным процессом, и в условиях *in vivo* агрессивная для стафилококков внешняя среда, не благоприятствующая условиям роста, вынуждает данных возбудителей к формированию биопленки для своей защиты (McCann M. T. et al., 2008; Fitzpatrick F. et al., 2002), что, возможно, также имеет важное значение в патогенезе перипротезной инфекции.

В целом, *S. aureus*, включенные в исследование, чаще характеризовались слабой способностью к БПО, вне зависимости от того, были ли они выделены с металлоконструкций или из биологических образцов: 57% и 65% соответственно. Несмотря на это, нельзя преуменьшать их роль в патогенезе имплантат-ассоциированных инфекций. Участие *S. aureus* в инфекциях, связанных с формированием микробных биопленок, требует заведомо более интенсивного лечения. Как правило, такие инфекции очень трудно поддаются антибиотикотерапии, и эндопротезы, инфицированные штаммами *S. aureus*, подлежат удалению чаще, чем инфицированные штаммами *S. epidermidis*, что, по нашему мнению, обусловлено наличием у *S. aureus* большего количества

факторов патогенности, приводящих к более ярким клиническим проявлениям инфекционного процесса и распространению инфекционного агента в другие локусы организма человека, вызывая в ряде случаев генерализацию инфекции.

Установлено, что метициллиночувствительные *S. aureus* и *S. epidermidis* практически не отличались по доле изолятов с выраженной способностью к БПО: 40,1 и 41,2% соответственно. Подобные результаты приведены в исследовании К. Smith с соавт., в котором авторы указывают на отсутствие корреляции ($p=0,77$) между чувствительностью штаммов *S. aureus* к метициллину и их пленкообразующей способностью (Smith K. Et al., 2008). Авторы предполагают, что способность формировать биопленку, скорее, зависит от источника выделения штамма. Этот тезис нам удалось подтвердить в ходе своего исследования: изоляты с удаленных протезов и биоптатов тканей обоих видов стафилококков проявляли значимо более выраженную способность к БПО по сравнению с изолятами из аспиратов (рис. 4.2). Таким образом, очевидно, что любая обусловленная имплантатами инфекция, особенно при невозможности удаления инфицированной конструкции, предполагает более сложную антибиотикотерапию и меньшие шансы на ее успех, особенно при невозможности удалить инфицированный имплантат.

Так, исследование эффективности сывороточных концентраций антибиотиков, в разной степени активных в отношении 25 штаммов MR-стафилококков показало (рис. 4.12), что ванкомицин, даптомицин, линезолид, рифампицин, фосфомицин и моксифлоксацин были существенно более активны ($p<0,05$) в отношении планктонных форм исследуемых изолятов, в сравнении с бактериями в составе зрелой биопленки. Наименьшая активность в отношении планктонных форм была установлена у ко-тримоксазола. Единственным антибиотиком, активность которого в отношении sessильных форм стафилококков была больше, чем планктонных, был гентамицин, который затормозил рост зрелой биопленки у 88% штаммов, однако, при этом эффективности гентамицина в отношении планктонных форм уступал только ко-тримоксазол. Обращает на себя внимание, что в отношении планктонных форм в

большей степени были эффективны антибиотики с наиболее выраженной анти-MR-активностью (ванкомицин, даптомицин, линезолид, фосфомицин) – в 36–52% случаев было подавлено формирование биопленки при воздействии на планктонные формы штаммов (рис. 4.13). Сессильные формы исследуемых изолятов MRSA, в целом, были более устойчивы к воздействию сывороточных концентраций АБ в сравнении с планктонными формами.

Нами, также была изучена эффективность антибиотиков, в различной степени активных в отношении MRSA, в комбинации с моксифлоксацином. Установлено, что 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 сессильных форм только у 37% MRSA штаммов. Установлено, на эффективность торможения роста зрелой биопленки больше оказывала влияние выраженная 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 сессильных 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 метициллинорезистентными штаммами стафилококков. Однако, необходимо принять во внимание, что указанные концентрации не обеспечили полной эрадикации возбудителя, что делает необходимым выполнение хирургической санации с удалением имплантата на поверхности которого, сформировалась зрелая биопленка.

Локальная АБТ при лечении ППИ и остеомиелита применяется много лет, при этом наибольшее распространение в клинической практике получила

комбинация ванкомицина с аминогликозидами (чаще гентамицином) в составе костного цемента при установке спейсера. Однако, как было показано в главе 3, гентамицин проявлял активность только в отношении 32,6 и 11,4% изолятов MRSE и MRSA, соответственно. По нашему мнению, высокая резистентность ведущих возбудителей к гентамицину обусловлена его широким применением в составе костного цемента в дозах, недостаточных для эрадикации возбудителей. К примеру, в клинике РНИИТО им. Р.Р. Вредена данный антибиотик не применяют для системной терапии с 2003 г. Полученные в нашем исследовании результаты (раздел 5.4 главы 5), свидетельствуют о том, что в модели *in vitro* длительность антимикробного действия костного цемента, содержащего 4,22 мас.% гентамицина, была крайне непродолжительной: 2 суток в отношении MSSA, *K. pneumoniae* и *E. coli*, 1 сутки в отношении MRSA. Добавление 5 мас.% ванкомицина к гентамицин-содержащему цементу продлило антимикробную активность образцов на 1 сутки в отношении MSSA, MRSA, и на 2 суток в отношении *K. pneumoniae*. Продолжительность действия на *E. coli* не изменилась. Двукратное увеличение содержания ванкомицина также не позволило значительно увеличить длительность антимикробного действия тестируемых образцов. Добавление фосфомицина позволило увеличить длительность антимикробной активности в отношении MSSA и *K. pneumoniae* до 4 недель и *E. coli* – до 17 суток. При этом продолжительность действия значимо не зависела от концентрации фосфомицина в костном цементе. В отношении MRSA увеличение содержания антибиотика с 10 до 20 мас.% показало продление активности с 3 до 5 суток. Таким образом, нам представлялось перспективным применение фосфомицина в составе костного цемента при установке антимикробных спейсеров, особенно у пациентов с ППИ, обусловленной микробными ассоциациями.

Кроме того, в серии экспериментов *in vitro* было доказано, что возможно усиление бактерицидного действия гентамицина при его комбинации с диоксидином и предложен «Способ преодоления устойчивости к гентамицину у метициллинорезистентных штаммов стафилококка» (Патент на изобретение RU

2 553 601 С2). Данные результаты позволили предложить «Антимикробное средство для профилактики имплант-ассоциированной инфекции и способ его применения» (Патент на изобретение RU 2535156 С1), содержащее гентамицин и диоксидин в разрешенных с системному применению концентрациях. Локальное применение разработанного средства в эксперименте *in vivo* предотвратило развитие инфекционного процесса при установке инфицированного имплантата в костномозговой канал бедренной кости кроликов.

Обобщение результатов многолетнего мониторинга структуры и резистентности ведущих возбудителей ППИ, скрининга способности к БПО у клинических штаммов стафилококков и результаты полученные при экспериментальном обосновании эффективности локальной и системной АБТ позволило разработать систему мер по оптимизации антибактериальной терапии перипротезной инфекции крупных суставов. Предлагаемая система (рис. 6.1) включает 3 этапа: стационарный и амбулаторный этапы АБТ и этап системного контроля назначения и потребления АБТ. 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 образцов биологического материала и удаленных конструкций, а также профиль резистентности ведущих возбудителей в стационаре в целом. Рациональный выбор препаратов для системной и локальной 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.

Так, внедренные в клиническую практику в 2010 году рекомендации по эмпирической и этиотропной терапии ППИ, основанные на локальном мониторинге ведущих возбудителей и их антибиотикорезистентности за предыдущий период времени (2007–2009 гг.), привели к существенному изменению структуры потребления антибиотиков. При этом, увеличение общего

потребления антибиотиков было незначимым и не вызвало увеличения доли финансовых затрат на данную группу препаратов (рис. 7.2): в среднем 72,6% за период 2007–2009 гг. и 72% – за 2010–2012 гг. от общих затрат в отделении на лекарственные препараты. Кроме того, в 2013 и 2014 году отмечено значимое ($p < 0,05$) снижение доли затрат на антибиотики в отделении гнойной хирургии в сравнении с 2007 г.

Общее потребление АМП, а также показатель DDD на 1 прооперированного больного за период с 2007 по 2014 гг. увеличились, что обусловлено широким использованием комбинированной терапии ППИ, изменением режима дозирования ванкомицина с переходом расчета дозы на массу тела, а также более широким использованием препаратов, активных в отношении полирезистентных штаммов стафилококков и энтерококков (линезолид, фосфомицин, рифампицин, ко-тримоксазол, моксифлоксацин). Выявленные изменения во многом обусловлены применением на практике результатов настоящего исследования и накопленных ранее данных, показавших преимущество комбинированной антибактериальной терапии при лечении имплантат-ассоциированных инфекций (Barberán J. 2006.; Aboltins C.A. et al., 2007; Yamaoka T., 2007; Rose W.E., Poppens P.T., 2008).

Что касается структуры потребления антибиотиков, то наибольшие результаты были достигнуты в сокращении использования цефалоспоринов III поколения и увеличении – препаратов с активностью против MR-штаммов стафилококков. При этом 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 корреляционная 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, а именно – контроль уровня резистентности *S. aureus* – лидирующего возбудителя ППИ. В целом, на основании полученных результатов

фармакоэпидемиологического анализа можно сделать заключение, что DDD-методология отражает все существенные изменения в характере потребления АМП, что позволяет использовать его в рутинной практике для контроля и управления антибактериальной терапией в стационаре.

Для полноценной организации лекарственной помощи больным с инфекцией протезированного сустава необходимы существенные финансовые затраты и стандартизация лекарственного обеспечения. Для оптимизации финансовых затрат нами проведен расчет «стоимости болезни» пациента с ППИ в отделении гнойной хирургии в зависимости от типа saniрующей операции, характера возбудителя, стартовой антибактериальной терапии, разработанных методов локальной АБТ.

Расчет проводили с учетом всех затрат медицинского учреждения при проведении диагностики и лечения определенного заболевания. При расчете «стоимости болезни» учитывали фактические затраты на оперативное пособие, диагностические и лечебные процедуры, фармакотерапию, компоненты крови, расходные материалы и средства ухода, а также немедицинские затраты на пребывание в стационаре. Определена средняя «стоимость болезни», которая составила для пациентов с удалением эндопротеза и установкой цементного спейсера 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) – для пациентов, перенесших saniрующую операцию без удаления эндопротеза ($p < 0,01$). При этом, в группе пациентов, которым выполняли удаление эндопротеза были существенно выше фактические затраты на оперативное пособие, антибиотики и другие лекарственные средства, а также на пребывание в ОРИТ ($p < 0,01$). Затраты на прочие медицинские услуги (включающие клинко-диагностические процедуры, перевязки, лабораторное обследование, консультации специалистов и др.) и предоставление койко-дня в палате различались незначительно.

Установлено, что в структуре «стоимости болезни» затраты на антибиотики составили в среднем только 8%, на прочие лекарственные средства – 5,4% и не зависели от типа saniрующей операции (рис. 7.15). Основные затраты

приходятся на обеспечение оперативного пособия: 37,7 и 30,7%, и прочие медицинские услуги, включающие пребывание пациента в стационаре и диагностические исследования: 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 I, соответственно ($p > 0,05$). Расчет коэффициента «затраты-эффективность» (СЕА), также показал, что санирующая операция с удалением эндопротеза и установкой спейсера требует больших финансовых затрат в сравнении с санацией гнойного очага без удаления эндопротеза (1934,2 vs 1336,4). Таким образом, 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 ЭП у значительной части пациентов (82,6%).

Анализ финансовых затрат на 1 госпитализацию пациента с ППИ в зависимости от метициллинорезистентности штамма-возбудителя показал, что в целом «стоимость болезни» не зависит от характера возбудителя, однако затраты на антибиотики, включающие препараты с активностью против MR-изолятов, были существенно выше ($p < 0,05$). Данную тенденцию подтвердил и расчет коэффициента «затраты-эффективность», который показал, что в целом, с учетом большей частоты рецидивов (34,6 и 24,5% для MR- и MS-группы, соответственно), лечение перипротезной инфекции, вызванной MR-стафилококками является более затратным (СЕА=2131,7), чем в случае метициллиночувствительных возбудителей (СЕА=1882,5).

Безусловно, на течение перипротезной инфекции и результаты ее лечения оказывают влияние многочисленные факторы, причем не только со стороны пациента (состояние иммунной системы, сопутствующая патология, возраст и т.д.) и со стороны возбудителя (вид и устойчивость к антибиотикам и факторам иммунной системы), но также со стороны системы здравоохранения. К сожалению, несвоевременная диагностика ППИ, и запоздалое оказание квалифицированной медицинской помощи приводят к длительному периоду существования инфекции с момента ее манифестации до санирующей операции,

что значительно ухудшает результаты лечения и приводит к необходимости выполнения многократных операций. Все это существенно отягощает состояние пациента в целом и вовлекает в процесс большой объем тканей, окружающих инфицированный эндопротез. В нашем исследовании среди пациентов, которым был выполнен saniрующий этап двухэтапного лечения ППИ с установкой спейсера в 2007–2011 гг. средний срок существования ППИ от момента манифестации составил более 9 мес., а в 2014–2015 гг. – более 25 мес. При этом каждый третий пациент на момент включения в исследование уже перенес saniрующие операции. Однако, выполнение адекватной санации очага инфекции с удалением инфицированных конструкций на фоне рационально подобранной комбинированной системной и локальной антибактериальной терапии, позволяет повысить эффективность лечения перипротезной инфекции.

В результате анализа клинико-экономической эффективности двух режимов стартовой терапии ППИ, вызванной MS-штаммами стафилококков, было установлено, что наиболее рациональной схемой с точки зрения «затраты-эффективность» была комбинация бета-лактамов, а именно ингибиторозащищенных аминопенициллинов, с ципрофлоксацином (АБТ-1), в сравнении со схемой, включающей ванкомицин+ципрофлоксацин (АБТ-2). Последняя, несмотря на существенное увеличение затрат не только на антибактериальную терапию ($p < 0,01$), но и значительное повышение «стоимости болезни» ($p < 0,05$), не приводила к значимому снижению частоты рецидивов: 9,5 и 11% в группах АБТ-1 и АБТ-2, соответственно. Таким образом, необходимо избегать назначения ванкомицина для этиотропной терапии ППИ, вызванной метициллиночувствительными штаммами *Staphylococcus* sp. и применять данный препарат только для терапии инфекции, вызванной метициллинорезистентными штаммами или в составе эмпирической антибактериальной терапии до идентификации возбудителя.

Локальное применение разработанной полимерной антимикробной композиции, несмотря на отсутствие существенного влияния на «стоимость болезни» в целом, позволило снизить коэффициент «затраты-эффективность» с

1943,2 до 1730,1 за счет снижения частоты рецидивов инфекции с 28 до 13,3%, для группы I и группы АМГ, соответственно. Аналогично, и применение фосфомицина в составе костного цемента при установке антимикробного спейсера значимо не повлияло на «стоимость болезни», однако снижение частоты рецидивов с 27,3 до 21,7% при использовании ванкомицина и фосфомицина, соответственно, также позволило снизить коэффициент «затраты-эффективность» с 2363,8 до 2114,6. При этом при лечении ППИ вызванной микробными ассоциациями импрегнация гентамицин-содержащего спейсера фосфомицином позволила купировать инфекционный процесс в 77% наблюдений, ванкомицином – в 67,4%, что в обоих случаях достоверно ($p < 0,05$) превышало эффективность санлирующего этапа у аналогичной категории пациентов ретроспективной группы (47,1%). В целом внедрение в клиническую практику обоснованной системы мер оптимизации антибактериальной терапии позволило значимо улучшить ($p < 0,05$) результаты лечения пациентов с ППИ и снизить частоту рецидивов с 31,2% в ретроспективной группе ($n=224$) до 15,6% в проспективной группе больных ($n=252$).

Таким образом, разработанная система оптимизации антимикробной терапии перипротезной инфекции способствует улучшению результатов лечения перипротезной инфекции за счет более эффективного купирования инфекции, что в наибольшей степени проявляется в случаях участия в этиологии представителей *Staphylococcus* spp. в составе микробных ассоциаций, а также позволяет контролировать рост резистентности ведущих возбудителей. Кроме того, предлагаемые фармакоэкономические методы контроля потребления антимикробных препаратов и финансовых затрат на них в совокупности с микробиологическим мониторингом ведущей микрофлоры позволяют оценить рациональность назначения антибиотиков, своевременно внести изменения в рекомендации и оценить их эффективность.

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 saniрующей 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 *S. epidermidis* по сравнению с *S. aureus* 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 аспиратов.

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 значимо 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 метициллинорезистентными стафилококками.

7. Внедрение в клинику обоснованной системы мер оптимизации антибактериальной терапии позволило значимо 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 антибактериальная терапия 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. 6.1), включающие наиболее предпочтительные комбинации препаратов, пути их введения, дозировки и методы контроля за нежелательными эффектами.

6. При выделении штаммов *Staphylococcus* spp. из дооперационного аспирата в монокультуре рекомендуется назначать антибактериальную терапию, активную в отношении выделенного штамма стафилококка и ведущих грамтрицательных 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-лактамный 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 антибиотики широкого спектра действия, включающего MRSA и MRSE, в частности – фосфомицин, что достоверно ($p < 0,05$) повышает эффективность saniрующего 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 antimicrobные 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.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

DDD – «defined daily dose», средняя поддерживающая суточная доза ЛС для взрослого человека массой тела 70кг

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

IQR – межквартильный интервал

MR – метициллинорезистентный

MRSA – метициллинорезистентный *S. aureus*

MRSE – метициллинорезистентный *S. epidermidis*

MS – метициллиночувствительный

MSSA – метициллиночувствительный *S. aureus*

MSSE – метициллиночувствительный *S. epidermidis*

MXF – моксифлоксацин

PGA – полигликолид

PLGA – поли(D,L-лактид-со-гликолид)

PLLA – поли-L-лактид

VRE – ванкомицин-резистентный энтерококк

АБТ – антибактериальная терапия

АМП – антимикробные препараты

АНГБК – асептический некроз головки бедренной кости

БПО - биопленкообразование

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

Гр(+) – грамположительные микроорганизмы

Гр(-) – грамотрицательные микроорганизмы

ДИ – доверительный интервал

ДКМ – деминерализованный костный матрикс

ИЗ-АП – ингибиторзащищенные аминопенициллины

ИАИ – имплантат-ассоциированная инфекция

ИМТ – индекс массы тела

ИОХВ – инфекция области хирургического вмешательства

КС – коленный сустав

ЛПУ – лечебно-профилактическое учреждение

ЛС – лекарственное средство

МИК – минимальная ингибирующая концентрация

МНН – международное непатентованное наименование

МХБ – Мюллера-Хинтон бульон

ОР – относительный риск

ПММА – полиметилметакрилат

ППИ – перипротезная инфекция

ПСБ2а – пенициллин-связывающий белок

ПСтБ – показатель стоимости болезни

СД – сахарный диабет

СРБ – С-реактивный белок

ССС – сердечно-сосудистая система

ТБС – тазобедренный сустав

ТКФ – трикальцийфосфат

ЦКДЛ – центральная клиничко-диагностическая лаборатория

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ШБК – шейка бедренной кости

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ардашев, И.П. Использование препарата «Коллапан» при остеомиелите позвоночника в эксперименте / И.П. Ардашев, С.В. Черницов, И.Ю. Веретельникова [и др.] // Гений ортопедии. – 2012. – № 2. – С. 44–48.
2. Ахтямов, И.Ф. Костный цемент и локальная антибиотикотерапия в гнойной хирургии / И.Ф. Ахтямов Г.В. Куропаткин, Э.Б. Гатина [и др.] // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2014. – № 3. – С. 81–87.
3. Баринов, С.М. Керамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция для медицины / С.М. Баринов // Успехи химии. – 2010. – № 1(79). – С. 15–32.
4. Белобородов, В.Б. Актуальные вопросы антимикробной терапии хирургических инфекций / В.Б. Белобородов // Инфекции в хирургии. – 2003. – №1. – С.28–30.
5. Белоусов, Ю.Б. Основы фармакоэкономических исследований / Ю.Б. Белоусов, Д.Ю. Белоусов, В.П. Комарова // М.: ООО «Издательство ОКИ», 2000 г. – 87 с.
6. Бут–Гусаим, А.Б. Локальная антибиотикопрофилактика препаратом Collatamp EG при бесцементном эндопротезировании тазобедренного сустава / А.Б. Бут-Гусаим, И.В. Сиротин, А.А. Пименов // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2013. – № 2(6). – С. 7–9.
7. Гольник, В.Н. Лечение ранней парапротезной инфекции при эндопротезировании тазобедренного сустава / В.Н. Гольник, В.М. Прохоренко, В.В. Павлов // Бюллетень Восточно-сибирского научного центра Сибирского отделения РАМН. – 2012. – № 4(86), Ч. 2. – С. 35–38.
8. Гостев, В.В. Бактериальные биоплёнки и инфекции В.В. Гостев, С.В. Сидоренко // Журнал инфектологии. – 2010. – № 3(2). С. 4–15.
9. Гржибовский, А.М. Анализ количественных данных для двух независимых групп / А.М. Гржибовский // Экология человека. – 2008. – № 2. – С. 54–61.
10. Данильченко, С.Н. Экспериментальное обоснование применения композитных материалов на основе хитозана и фосфатов кальция для замещения

костных дефектов / С.Н. Данильченко, О.В. Калининевич, М.В. Погорелов и др. // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2009. – № 1. – С. 66–72.

11. Дьяченко, С.В. Концепция построения медицинского аудита для рационального лекарственного обеспечения многопрофильного стационара С.В. Дьяченко, С.Ш. Сулейманов, Е.В. Слободенюк [и др.] // Проблемы стандартизации в здравоохранении. – 2006. – № 5. – С. 17–24.

12. Ежов, И.Ю. Проблема гнойно–некротических и ранних гнойно–септических осложнений при эндопротезировании тазобедренного сустава / И.Ю. Ежов, А.А. Корыткин, М.И. Бобров [и др.] // Вестник Национального медико–хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2010. – № 1. – С. 22–25.

13. Ефименко, Н.А. Профилактика инфекций области хирургического вмешательства в травматологии и ортопедии: использование антибиотиков в костном цементе / Н.А. Ефименко, А.А. Грицюк, А.П. Серeda [и др.] // Инфекции в хирургии. – 2009. – № 2(7). – С. 15–27.

14. Живцов, О.П., Митрофанов В.Н. Применение биокompозитных материалов при лечении пациентов с полостными формами остеомиелита. Материалы I Международного конгресса «Раны и раневые инфекции». 11–13 октября 2012 г. Москва http://woundsurgery.ru/tezis/1kongress_tezis.pdf (дата обращения 01.06.2015)

15. Зайцев, А.А. Стафилококки и ванкомицин: тенденции противостояния / А.А. Зайцев, О.И. Карпов, С.В. Сидоренко // Антибиотики и химиотерапия. – 2003. – №6 (48). – С. 20–26.

16. Ивлев, В. Методология функционально–стоимостного анализа ABC (ФСА) (Электронный ресурс) / В. Ивлев, Т. Попова. – Режим доступа: <http://www.cfin.ru/vernikov/idef/abc.shtml> (дата обращения 01.02.2015).

17. Кильметов, Т.А. Локальная антибиотикотерапия при инфекции области эндопротеза сустава / Т.А. Кильметов, И.Ф. Ахтямов, И.Ш. Гальмутдинов [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2014. – № 3. – С. 405–411.

18. Ключин, Н.М. Острофазовые клинико–биохимические показатели у больных с парапротезной инфекцией тазобедренного сустава в раннем послеоперационном периоде / Н.М. Ключин, С.Н. Лунева, Ю.В. Абабков, А.М. Ермаков // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 4. – С. 311–317.

19. Ключин, Н.М. Микрофлора хронического остеомиелита плечевой кости // Н.М. Ключин, З.С. Науменко, Л.В. Розова, Д.С. Леончук // Гений ортопедии. – 2014. – № 3. – С. 57–59.
20. Ключин, Н.М. Парипротезная инфекция как причина ревизионных вмешательств после тотального эндопротезирования коленного сустава: этиология, диагностика, лечение / Н.М. Ключин, Ю.В. Абабков, А.М. Ермаков // Забайкальский медицинский вестник. – 2015. – № 2. – С. 189–197.
21. Корнилов, Н.В. Хирургическое лечение дегенеративно-дистрофических поражений тазобедренного сустава / Н.В. Корнилов, А.В. Войтович, В.М. Машков, Г.Г. Эпштейн. – СПб.: ЛИТО Синтез, 1997. – 292 с.
22. Куропаткин, Г.В. Костный цемент в травматологии и ортопедии / Г.В. Куропаткин, И.Ф. Ахтямов. – Казань: ТаГраф, 2014. – 188 с.
23. Линник, С.А. Применение препарата Osteoset для заполнения костных полостей / С.А. Линник, П.П. Ромашов, К.А. Новоселов [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2009. – № 3 (53). – С. 155–156.
24. Линник, С.А. Раннее двухэтапное ревизионное эндопротезирование тазобедренного и коленного суставов после глубокого нагноения / Линник С.А., Ромашев П.П., Новоселов К.А. [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2009. – № 3 (53). – С. 151–154.
25. Льюис, К. Персистирующие клетки и загадка выживания биоплёнок / К. Льюис // Биохимия. – 2005. – № 2(70). – С. 327–336.
26. Митрофанов, В.Н. Опыт применения ультразвуковой кавитации при лечении пациентов с хроническим полостным остеомиелитом / В.Н. Митрофанов, О.П. Живцов // Медицинский альманах. – 2013. – № 3 (27). – С. 115–116.
27. Мурылев, В.Ю. Применение спейсеров для лечения глубокой перипротезной инфекции тазобедренного и коленного суставов / В.Ю. Мурылев, М.Ю. Холодаев, Я.А. Рукин [и др.] // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2013. – № 3. – С. 24.
28. Мушкин, М.А. Сравнительный рентгенологический анализ остеорепарации после радикально-восстановительных операций, проведенных с использованием различных пластических материалов у детей с деструктивными поражениями костей / М.А. Мушкин, А.А. Першин, Е.С. Кириллова, А.Ю. Мушкин // Гений ортопедии. – 2012. – № 1. – С. 102–105.

29. Прохоренко, В.М. Профилактика, диагностика и лечение ранней инфекции области хирургического вмешательства при эндопротезировании тазобедренного сустава / В.М. Прохоренко, В.В. Павлов, Н.В. Петрова // Травматология и ортопедия России. – 2008. – № 2(48). – С. 84–90.
30. Пичхадзе, И.М. Лечение больных с гнойно–воспалительными осложнениями после эндопротезирования тазобедренного сустава / И.М. Пичхадзе, К.А. Кузьменков, А.В. Жадин и др. // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2009. – № 3. – С. 45–50.
31. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. – Смоленск : МАКМАХ, 2007. – 464 с.
32. Привольнев, В.В. Местное применение антибиотиков в лечении инфекции костной ткани / В.В. Привольнев // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 2. – С. 118–131.
33. Проценко, Д.Н. Влияние Протокола по антимикробной терапии на частоту и прогноз нозокомиальной пневмонии у больных с тяжелой травмой / Д.Н. Проценко, А.И. Ярощцкий, С.В. Яковлев и др. // Инфекции и антимикробная терапия. – 2005. – Т. 7, № 2. – С. 40–42.
34. Рак, А.В. Хирургические инфекции опорно–двигательного аппарата. Остеомиелиты / А.В. Рак, Ю.А. Амирасланов, И.В. Борисов // Хирургические инфекции: практическое руководство / под ред. И.А.Ерьюхина и др. – М. : Литтерра, 2006. – С. 635–678.
35. Римашевский, Д.В. Метод двухэтапной ревизии при глубокой парапротезной инфекции эндопротеза коленного сустава / Д.В. Римашевский, Е.Д.Т. Курмангалиев, И.Ф. Ахтямов [и др.] // Практическая медицина. – 2014. – № 4–2. – С. 123–127.
36. Розенсон, О.Л. Оценка стоимости и эффективности антибактериальной терапии / О.Л. Розенсон, Л.С. Страчунский // Русский медицинский журнал. – 1998. – Т.6, №4. – С. 251–258.
37. Руднов, В.А. Формуляр антимикробных средств для отделений реанимации и интенсивной терапии / В.А. Руднов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 1999. – Т. 1, № 1. – С. 68–75.

38. Сергиенко, В.И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева. – М. : ГЭОТАР Медицина, 2000. – С. 70–73.
39. Серeda, А.П. Диагностика перипротезной инфекции. Часть 1: серология / А.П. Серeda Г.М. Кавалерский, В.Ю. Мурылев, Я.А. Рукин // Травматология и ортопедия России. – 2014. – № 4. – С. 115–126.
40. Сидоренко, С.В. Микробиологические аспекты хирургических инфекций / С.В. Сидоренко // Инфекции в хирургии. – 2003. – № 1. – С. 22–27.
41. Сидоренко, С.В. Инфекции в интенсивной терапии / С.В. Сидоренко, С.В. Яковлев. — М. : Бионика, 2003. – 208 с.
42. Слободской, А.Б. Осложнения после эндопротезирования тазобедренного сустава / А.Б. Слободской, Е.Ю. Осинцев, А.Г. Лежнев // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2011. – № 3. – С. 59–63.
43. Страчунский, Л.С. Сравнительная активность антибактериальных препаратов, входящих в лекарственные формы для местного применения в отношении *Staphylococcus aureus*: результаты российского многоцентрового исследования / Л.С. Страчунский, А.В. Дехнич, Ю.А. Белькова [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2002. – Т.4, № 2. – С. 157–163.
44. Сухорукова, М.В. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. / М.В. Сухорукова, Е.Ю. Склеенова, Н.В. Иванчик [и др.]. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2014. – Т. 16, № 4. – С. 280–286.
45. Тец, В.В. Микроорганизмы и антибиотики / В.В. Тец // Инфекции кожи, мягких тканей, костей и суставов. – СПб. : КЛЕ–Т, 2006. – С. 1–128.
46. Тихилов, Р.М. Данные регистра эндопротезирования тазобедренного сустава РНИИТО им. Р.Р. Вредена за 2007–2012 годы / Р.М. Тихилов, И.И. Шубняков, А.Н. Коваленко [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2013. – № 3. – С. 167–190.

47. Тихилов, Р.М. Структура ранних ревизий эндопротезирования тазобедренного сустава / Р.М. Тихилов, И.И. Шубняков, А.Н. Коваленко [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2014. – № 2. – С. 5–13.
48. Шляпников, С.А. Профиль антибиотикорезистентности основных возбудителей госпитальных инфекций в ОРИТ многопрофильного стационара / С.А. Шляпников, Н.Р. Насер, Л.Н. Попенко // Инфекции в хирургии. – 2009. – №1. – С. 8–12.
49. 5th Report of the Mandatory Surveillance of Surgical Site Infection in Orthopaedic Surgery. http://www.hpa.org.uk/web/HPAwebFile/HPAweb_C/1259151994683 (9 March 2010, date last accessed).
50. Aboltins, C.A. Treatment of staphylococcal prosthetic joint infections with debridement, prosthesis retention and oral rifampicin and fusidic acid / C.A. Aboltins, M.A. Page, K.L. Buising [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. – 2007. – Vol. 13. – P. 586–591.
51. Achermann, Y. Improved diagnosis of periprosthetic joint infection by multiplex PCR of sonication fluid from removed implants / Y. Achermann, M. Vogt, M. Leunig [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48, N 4. – P. 1208–1214.
52. Ainscow, D. The risk of haematogenous infection in total joint replacements / D. Ainscow, R. Denham // J. Bone Joint Surg. Br. – 1984. – Vol. 66. – P. 580–582.
53. Al Arfaj, A.S. A prospective study of the incidence and characteristics of septic arthritis in a teaching hospital in Riyadh, Saudi Arabia / A.S. Al Arfaj // Clin. Rheumatol. – 2008. – Vol. 27. – P. 1403–1410.
54. Allami, M.K. Superficial incisional infection in arthroplasty of the lower limb. Interobserver reability of the current diagnostic criteria / M.K. Allami, W. Jamil, Fourie B. et al. // J. Bone Joint. Surg. Br. – 2005. – Vol. 87. – P. 1267–1271.
55. Amin, T.J. Increasing the elution of vancomycin from high-dose antibiotic-loaded bone cement: a novel preparation technique / T.J. Amin, J.W. Lamping, K.J. Hendricks, T.E. McIff // J. Bone Joint Surg. Am. – 2012. – Vol. 94. – P. 1946–1945.
56. Amstutz, H.C. Innovations in design and technology / H.C. Amstutz // Clin. Orthop. – 2000. – N 378. – P. 23–30

57. Anand, A. Cefoperazone sodium impregnated polycaprolactone composite implant for osteomyelitis / A. Anand, R. Pundir, C.S. Pandian [et al.] // *Ind. J. Pharm. Sci.* – 2009. – Vol. 71, N 4. – P. 377–381.
58. Anderl, J.N. Role of nutrient limitation and stationary-phase existence in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin / J.N. Anderl, J. Zahller, F. Roe, P.S. Stewart // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2003. – Vol. 47. – P. 1251.
59. Andersson, O.H. Dissolution, leaching, and Al₂O₃ enrichment at the surface of bioactive glasses studied by solution analysis / O.H. Andersson, J. Rosenquist, K.H. Karlsson // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1993. – Vol. 27. – P. 941–948.
60. Arnold, S.R. Changing patterns of acute hematogenous osteomyelitis and septic arthritis: emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / S.R. Arnold, D. Elias, S.C. Buckingham [et al.] // *J. Pediatr. Orthop.* – 2006. – Vol. 26. – P. 703–708.
61. Atkins, B. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. The OSIRIS Collaborative Study Group / B. Atkins, N. Athanasou, J. Deeks [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 1998. – Vol. 36. – P. 2932–2939.
62. Barberán, J. Management of infections of osteoarticular prosthesis / J. Barberán // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2006. – Vol. 12, Suppl. 3. – P. 93–101.
63. Barrett, L. The clinical presentation of prosthetic joint infection / L. Barrett, B. Atkins // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2014. – Vol. 69, N 1. – P. 25–27.
64. Bauer, T.W. Diagnosis of periprosthetic infection / T.W. Bauer, J. Parvizi, N. Kobayashi, V. Krebs // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 2006. – Vol. 88, N 4. – P. 869–882.
65. Berbari, E. Risk factors for prosthetic joint infection: case-control study / E. Berbari, A. Hanssen, M. Duffy [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 1998. – Vol. 27. – P. 1247–1254.
66. Berbari, E.F. Culture-negative prosthetic joint infection / E.F. Berbari, C. Marculescu, I. Sia [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2007. – Vol. 45, N 9. – P. 1113–1119.
67. Berenbaum, M.C. A method for testing for synergy with any number of agents / M.C. Berenbaum // *J. Infect. Dis.* – 1978. – Vol. 137. – P. 122–130.

68. Berrington, A. Hospital antibiotic prescribing data require careful local interpretation / A. Berrington // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2007. – Vol. 59, N 1. – P. 162–163.
69. Bertazzoni, M.E. Release of gentamicin and vancomycin from temporary human hip spacers in two-stage revision of infected arthroplasty / E.B. Minelli, A. Benini, B. Magnan, P. Bartolozzi // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2004. – Vol. 53, N 2. – P. 329–334.
70. Biofilms, infection, and antimicrobial therapy / ed. by J.L. Pace [et al.]. – Boca Raton : Taylor & Francis Group, 2006. – 495 p.
71. Bloemendaal, A.L.A. Methicillin resistance transfer from *Staphylococcus epidermidis* to methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in a patient during antibiotic therapy / A.L.A. Bloemendaal, E.C. Brouwer, A.C. Fluit // *PLoS ONE.* – 2010. – Vol. 5, N 7. – P. e11841.
72. Blyth, M.J. The changing epidemiology of acute and subacute haematogenous osteomyelitis in children / M.J. Blyth, R. Kincaid, M.A. Craigen, G.C. Bennet // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 2001. – Vol. 83–B, N 1. – P. 99–102.
73. Borrego, A.F. Diagnosis of infection in hip and knee revision surgery: intraoperative frozen section analysis / A.F. Borrego, F.M. Martinez, J.L. Cebrian Parra, [et al.] // *Int. Orthop.* – 2007. – Vol. 31, N 1. – P. 33–37.
74. Borriello, G. Oxygen limitation contributes to antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms / G. Borriello, E. Werner, F. Roe [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2004. – Vol. 48. – P. 2659–2664.
75. Böstman, O.M. Tissue restoration after resorption of polyglycolide and poly-laevo-lactic acid screws / O.M. Böstman, O.M. Laitinen, O. Tynnenen [et al.] // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 2005. – Vol. 87, N 11. – P. 1575–1580.
76. Bouzakis, K.D. Investigation of mechanical properties of antibiotics-loaded acrylic bone cement / K.D. Bouzakis, N. Michailidis, G. Mesomeris [et al.] // *Proceedings of the 3rd International Conference on Manufacturing Engineering (ICMEN), 1–3 October 2008, Chalkidiki, Greece.*
77. Bozic, K.J. Patient-related risk factors for periprosthetic joint infection and postoperative mortality following total hip arthroplasty in Medicare patients / K.J. Bozic, E. Lau, S. Kurtz [et al.] // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 2012. – Vol. 94, N 9. – P. 794–800.

78. Bozic K.J. The impact of infection after total hip arthroplasty on hospital and surgeon resource utilization / K.J. Bozic, Ries M.D. // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 2005. – Vol. 87, N 8. – P. 1746–1751.
79. Brady, R.A. Infections of orthopaedic implants and devices / R.A. Brady, J.H. Calhoun, J.G. Leid, M.E. Shirtliff // *Biofilms and device-related infections.* – Springer : NY, 2009. – P. 15–56.
80. Branda, S.S. Biofilms: the matrix revisited / S.S. Branda, A. Vik, L. Friedman Kolter // *Trends in Microbiology.* – 2005. – Vol. 13, N1. – P. 20–26.
81. Buttaro, M.A. High active local levels of vancomycin without nephrotoxicity released from impacted bone allografts in 20 revision hip arthroplasties / M.A. Buttaro, M.I. Gimenez, G. Greco [et al.] // *Acta Orthop.* – 2005. – Vol. 76, N 3. – P. 336–340.
82. Byren, I. One hundred and twelve infected arthroplasties treated with “DAIR” (debridement, antibiotics and implant retention): antibiotic duration and outcome / I. Byren, P. Bejon, B.L. Atkins [et al.] // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2009. – Vol. 63, N6. – P. 264–271.
83. Campana, V. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice / V. Campana, G. Milano, E. Pagano [et al.] // *J. Mater. Sci. Med.* – 2014. – Vol. 25, N 10. – P. 2445–2461.
84. Campoccia, D. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates from implant orthopedic infections / D. Campoccia, L. Montanaro, L. Baldassarri [et al.] // *Int. J. Artif. Organs.* – 2005. – Vol. 28. – P. 1186–1191.
85. CDC–1. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin. United States, 2002 // *MMWR.* – 2002. – Vol. 51. – P. 565–567.
86. CDC–2. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin. United States, 2002 // *MMWR.* – 2002. – Vol. 51. – P. 902–903.
87. Chohfi, M.N. Pharmacokinetics, uses, and limitations of vancomycin-loaded bone cement / M.N. Chohfi, F.D. Langlais, J.R. Fourastier [et al.] // *Int. Orthop.* – 1998. – Vol. 22. – P. 171–177.
88. Christensen, G.D. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to

medical devices / G.D. Christensen, W.A. Simpson, J.J. Younger [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1985. – Vol. 22. – P. 996–1006.

89. Corona, P.S. Antibiotic susceptibility in gram-positive chronic joint arthroplasty infections: increased aminoglycoside resistance rate in patients with prior aminoglycoside-impregnated cement spacer use / P.S. Corona, L. Espinal, D. Rodriguez-Pardo [et al.] // J. Arthroplasty. – 2014. – Vol. 29, N 8. – P. 1617–1621.

90. Corvec, S. Epidemiology and new developments in the diagnosis of prosthetic joint infection / S. Corvec, M.E. Portillo, B.M. Pasticci [et al.] // Int. J. Art. Organs. – 2012. – Vol. 35, N 10. – P. 923–934.

91. Davey, M.E. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics / M.E. Davey, G.A. O'Toole // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2000. – Vol. 64. – P. 847–867.

92. de Haas, C.J. Chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus*, a bacterial antiinflammatory agent / C.J. de Haas, K.E. Veldkamp, A. Peschel [et al.] // J. Exp. Med. – 2004. – Vol. 199. – P. 687–695.

93. De Kievit, T.R. Quorum sensing and microbial biofilms / T.R. De Kievit, B.H. Iglewski // Medical implications of biofilms. – Cambridge : University Press, 2003. – P. 18–35.

94. DiCicco, M.H. Tobramycin and gentamycin elution analysis between two in situ polymerizable orthopedic composites / M.H. DiCicco, T.R. Duong, A.F. Chu, S.A. Jansen // J. Biomed. Mater. Res. – 2003. – Vol. 65. – P. 137–149.

95. Ding, H. A novel injectable borate bioactive glass cement as an antibiotic delivery vehicle for treating osteomyelitis / H. Ding, C.J.vZhao, X. Cui [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, N 1. – P. e85472.

96. DiPisa, J.A. The temperature problem at the bone – acrylic cement interface of the total hip replacement / J.A. DiPisa, G. S.Sih, A.T. Berman // Clin. Orthop. Relat. Res. – 1976. – Vol. 121. – P. 95–98.

97. Drago, L. Bioactive glass BAG-S53P4 for the adjunctive treatment of chronic osteomyelitis of the long bones: an *in vitro* and prospective clinical study / L. Drago, D. Romanò, E. De Vecchi [et al.] // BMC Infect. Dis. – 2013. – Vol. 13. – P. 584.

98. Drago, L. In vitro antibiofilm activity of bioactive glass S53P4 / L. Drago, C. Vassena, S. Fenu [et al.] // Future Microbiol. – 2014. – Vol. 9, N 5. – P. 593–601.

99. Dubost, J.J. No changes in the distribution of organisms responsible for septic arthritis over a 20 year period / J.J. Dubost, M. Soubrier, J.M. De C.C. Ristori (et al.) // *Ann. Rheum. Dis.* – 2002. – Vol. 61. – P. 267–269.
100. Dunne, W.M. Bacterial adhesion: seen any good biofilm lately? / W.M. Dunne // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2002. – Vol. 15. – P. 155–166.
101. Eaton, T.J. Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates / T.J. Eaton, M.J. Gasson // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2001. – Vol. 67. – P. 1628–1635.
102. Edin, M.L. Effect of cefazolin and vancomycin on osteoblasts *in vitro* / M.L. Edin, T.P. Miclau, G.E. Lester [et al.] // *Clin. Orthop.* – 1996. – N 333. – P. 245–251.
103. Ehrlich, G.D. Intelligent implants to battle biofilms: self-diagnosing, self-treating, self-monitoring artificial joints could combat postimplant infections attributable to biofilms / G.D. Ehrlich, F.Z. Hu, Q. Lin [et al.] // *ASM News.* – 2004. – Vol. 70. – P. 127–133.
104. El-Husseiny, M. Biodegradable antibiotic delivery systems / M. El-Husseiny, S. Patel, R.J. MacFarlane, F.S. Haddad // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 2011. – Vol. 93–B. – P. 151–157.
105. Ensing, G.T. Copal bone cement is more effective in preventing biofilm formation than Palacos R-G / G.T. Ensing, J.R. van Horn, H.C. van der Mei [et al.] // *lin. Orthop. Relat. Res.* – 2008. – Vol. 466. – P. 1492–1498.
106. Espehaug, B. Antibiotic prophylaxis in total hip arthroplasty. Review of 10,905 primary cemented total hip replacements reported to the Norwegian arthroplasty register, 1987 to 1995 / B. Espehaug, L.B. Engesaeter, S.E. Vollset [et al.] // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 1997. – Vol. 79, N 4. – P. 590–595.
107. Esteban, J. Biofilm development by clinical isolates of *Staphylococcus* spp. from retrieved orthopedic prostheses / J. Esteban, D. Molina-Manso, I. Spiliopoulou [et al.] // *Acta Orthop.* – 2010. – Vol. 81, N 6. – P. 674–679.
108. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 1.3, 2011. Available from: URL:
http://www.eucast.org/antimicrobial_susceptibility_testing/previous_versions_of_tables/.

109. Fenollar, F. Analysis of 525 samples to determine the usefulness of PCR amplification and sequencing of the 16S rRNA gene for diagnosis of bone and joint infections / F. Fenollar, V. Roux, A. Stein [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – Vol. 44. – P. 1018–1028.
110. Fey, P.D. Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* / P.D. Fey, M.E. Olson // *Future Microbiol.* – 2010. – Vol. 5. – P. 917–933.
111. Fink, B. The value of synovial biopsy, joint aspiration and C-reactive protein in the diagnosis of late peri-prosthetic infection of total knee replacements / B. Fink, C. Makowiak, M. Fuerst [et al.] // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 2008. – Vol. 90. – P. 874–878.
112. Fink, B. High diagnostic value of synovial biopsy in periprosthetic joint infection of the hip / B. Fink, A. Gebhard, M. Fuerst [et al.] // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 2013. – Vol. 471. – P. 956–964.
113. Fitzpatrick, F. Environmental regulation of biofilm formation in intensive care unit isolates of *Staphylococcus epidermidis* / F. Fitzpatrick, H. Humphreys, E.G. Smyth [et al.] // *J. Hosp. Infect.* – 2002. – Vol. 52. – P. 212–218.
114. Forsberg, J.A. Diagnosis and management of chronic infection / J.A. Forsberg, B.K. Potter, G. Cierny, L. Webb // *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* – 2011. – Vol. 19, suppl. 1. – P. S8–S19.
115. Garazzino, S. Glycopeptide bone penetration in patients with septic pseudoarthrosis of the tibia / S. Garazzino, A. Aprato, L. Baietto [et al.] // *Clin. Pharmacokinet.* – 2008. – Vol. 47. – P. 793–805.
116. Gehrke, T. Proceedings of the International Consensus Meeting on periprosthetic joint infection / T. Gehrke, J. Parvizi. https://www.efort.org/wp-content/uploads/2013/10/Philadelphia_Consensus.pdf.
117. Geipel, U. Pathogenic organisms in hip joint infections / U. Geipel // *Int. J. Med. Sci.* – 2009. – Vol. 6, N 5. – P. 234–240.
118. Gilbert, D.N. The Sanford guide to antimicrobial therapy / D.N. Gilbert, R.C. Moellering, G.M. Eliopoulos [et al.] // Sperryville: Antimicrob. Ther. Inc., 2010. 220 p.
119. Gitelis, S. The treatment of chronic osteomyelitis with a biodegradable antibiotic-impregnated implant / S. Gitelis, G.T. Brebach // *J. Orthop. Surg. (Hong Kong)*. – 2002. – Vol. 10, N 1. – P. 53–60.

120. Gold, H.S. Antimicrobial-drug resistance / H.S. Gold, R.C. Moellering // N. Engl. J. Med. – 1996. – N 335. – P. 1445–1453.
121. Goldenberg, D.L. Septic arthritis / D.L. Goldenberg // Lancet. – 1998. – Vol. 351. – P. 197–202.
122. Grammatico, L. Epidemiology of vertebral osteomyelitis (VO) in France: analysis of hospital-discharge data 2002–2008 / L. Grammatico, S. Baron, E. Rusch [et al.] // Epidemiol. Infect. – 2008. – Vol. 136. – P. 653–660.
123. Greig, J.M. *Staphylococcus lugdunensis* vertebral osteomyelitis / J.M. Greig, M.J. Wood // Clin. Microbiol. Infect. – 2003. – Vol. 9. – P. 1139–1141.
124. Greish, Y.E. Phase evolution during the formation of stoichiometric hydroxyapatite at 37.4 degrees C / Y.E. Greish, P.W. Brown // J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater. – 2003. – Vol. 67, N 1. – P. 632–637.
125. Gristina, A. Infections from biomaterials and implants: a race for the surface / A. Gristina, P. Naylor, Q. Myrvik // Med. Prog. Technol. – 1988. – Vol. 14. – P. 205–224.
126. Gristina, A.G. Comparative *in vitro* antibiotic resistance of surface-colonizing coagulase-negative staphylococci / A.G. Gristina, R.A. Jennings, P. Naylor [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 1989. – Vol. 33. – P. 813–816.
127. Guidelines for ATC classification and DDD assignment (Electronic resource). — Mode of access: http://www.whocc.no/atc_ddd_index/
128. Gunatillake, P.A. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering / P.A. Gunatillake, R. Adhikari // Eur. Cell Mater. – 2003. – Vol. 5. – P. 1–16.
129. Hansen, E.N. Routine use of antibiotic laden bone cement for primary total knee arthroplasty: impact on infecting microbial patterns and resistance profiles / E.N. Hansen, B. Adeli, R. Kenyon, J. Parvizi // J. Arthroplasty. – 2014. – Vol. 29, N 6. – P. 1123–1127.
130. Hentzer, M. Quorum sensing in biofilms: gossip in slime city / M. Hentzer, M. Givskov, L. Eberl // Microbial biofilms. – Washington, D.C.: ASM Press, 2004. – P. 118–140.
131. Herford, A.S. Bone morphogenetic protein-induced repair of the premaxillary cleft / A.S. Herford, P.J. Boyne, R. Rawson, R.P. Williams // J. Oral Maxillofac. Surg. – 2007. – Vol. 65, N 11. – P. 2136–2141.

132. Hernigou, P. Treatment of infected hip arthroplasty / A.S. Herford, C.–H. Flouzat–Lachianette, R. Jalil [et al.] // *Open Orthopaedics J.* – 2010. – Vol. 4. – P. 126–131
133. Hiramatsu, K. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin / K. Hiramatsu, N. Aritaka, H. Hanaki [et al.] // *Lancet.* – 1997. – Vol. 350. – P. 1668–1671.
134. Hiramatsu, K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility / K. Hiramatsu, H. Hanaki, T. Ino [et al.] // *J. Antimicrob. Chemother.* – 1997. Vol. 40. – P. 135–136.
135. Holinka, J. Sonication cultures of explanted components as an add-on test to routinely conducted microbiological diagnostics improve pathogen detection / J. Holinka, L. Bauer, A.M. Hirschl [et al.] // *J. Orthop. Res.* – 2011. – Vol. 29. – P. 617–622.
136. Hope, P.G. Deep infection of cemented total hip arthroplasties caused by coagulase-negative staphylococci / P.G. Hope, K.G. Krinstinsson, P. Norman, R.A. Elson // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 1989. – Vol. 71–B. – P. 851–855.
137. Howden, B.P. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications / B.P. Howden, J.K. Davies, P.D.R. Johnson [et al.] // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2010. – Vol. 23, N 1. – P. 99–139.
138. Hunziker, S. The value of serum procalcitonin level for differentiation of infectious from noninfectious causes of fever after orthopaedic surgery / S. Hunziker, T. Hügle, K. Schuchardt [et al.] // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 2010. – Vol. 92, N 1. – P. 138–148.
139. Isefuku, S.L. Gentamicin may have an adverse effect on osteogenesis / S.L. Isefuku, C.J. Joyner, A.H. Simpson // *J. Orthop. Trauma.* – 2003. – Vol. 17. – P. 212–216.
140. Jafari, S.M. Revision hip arthroplasty: infection is the most common cause of failure / S.M. Jafari, C. Coyle, S.M. Mortazavi [et al.] // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 2010. – Vol. 468, N 8. – P. 2046–2051.
141. Jia, W.T. In vitro and *in vivo* efficacies of teicoplanin-loaded calcium sulfate for treatment of chronic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

osteomyelitis / W.T. Jia, S.H. Luo, C.Q. Zhang, J.Q. Wang // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2010. – Vol. 54, N 1. – P. 170–176.

142. Jiang, J.L. Vancomycin-loaded nano-hydroxyapatite pellets to treat MRSA-induced chronic osteomyelitis with bone defect in rabbits / J.L. Jiang, Y.F. Li, T.L. Fang [et al.] // *Inflamm.* – 2012. – Vol. 61, N 3. – P. 207–215.

143. Jiang, X. *Microbial Biofilms* / X. Jiang, J.L. Pace // *Biofilms, infection and antimicrobial therapy.* – Boca Raton, FL, USA: Taylor & Francis Group, 2006. – P. 3–19.

144. Ketonis, C. Antibiotic modification of native grafts: improving upon nature's scaffolds / C. Ketonis, C.S. Adams, S. Barr [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* – 2010. – N 6. – P. 2041–2049.

145. Krenn, V. Revised histopathological consensus classification of joint implant related pathology / V. Krenn, L. Morawietz, G. Perino [et al.] // *Pathol. Res. Pract.* – 2014. – Vol. 210, N 12. – P. 779–786.

146. Kurkcu, M. Anorganic bovine-derived hydroxyapatite vs β -tricalcium phosphate in sinus augmentation: a comparative histomorphometric study / M. Kurkcu, M.E. Benlidayi, B. Cam, Y.J. Sertdemir // *Oral Implantol.* – 2012. – Vol. 38. – P. 519–526.

147. Kurtz, S.M. Economic Burden of Periprosthetic Joint Infection in the United States / S.M. Kurtz, E. Lau, H. Watson [et al.] // *J. Arthroplasty.* – 2012. – Vol. 27, N 8, Suppl. – P. 61e1–65e1.

148. Kurtz, S.M. Infection burden for hip and knee arthroplasty in the United States / S.M. Kurtz, E. Lau, J. Schmier [et al.] // *J. Arthroplasty.* – 2008. – Vol. 23. – P. 984–991.

149. Ko, P.S. The role of intraoperative frozen section in decision making in revision hip and knee arthroplasties in a local community hospital / P.S. Ko, D. Ip, K.P. Chow [et al.] // *J. Arthroplasty.* – 2005. – Vol. 20. – P. 189–195.

150. Laine, J.C. Effects of mixing techniques on vancomycin-impregnated polymethylmethacrylate / J.C. Laine, T.D. Nguyen, J.M. Buckley, H.T. Kim // *J. Arthroplasty.* – 2011. – Vol. 26. – P. 1562–1566.

151. Lang S. The genomic diversity of coagulase-negative staphylococci associated with nosocomial infections / S. Lang, M.A. Livesley, P.A. Lambert [et al.] // *J. Hosp. Infect.* – 1999. – Vol. 43. – P. 187–193.

152. Langlais, F. Can we improve the results of revision arthroplasty for infected total hip replacement? / F. Langlais // *J. Bone Joint. Surg. Br.* – 2003. – Vol. 85. – P. 637–640.
153. Le Ray, A.M. In vitro and *in vivo* bactericidal activities of vancomycin dispersed in porous biodegradable poly(epsilon-caprolactone) microparticles / A.M. Le Ray, H. Gautier, M.K. Laty [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2005. – Vol. 49, N 7. – P. 3025–3027.
154. Lee, G.H. Adverse reactions to OsteoSet bone graft substitute the incidence in a consecutive series / G.H. Lee, J.G. Khoury, J.E. Bell, J.A. Buckwalter // *Iowa Orthop J.* – 2002. – Vol. 22. – P. 35–38.
155. Lee, K. Current state and future of joint replacements in the hip and knee / K. Lee, S.B. Goodman // *Expert. Rev. Med. Devices.* – 2008. – Vol. 5. – P. 383–393.
156. Lemaire, S. Activity of fusidic acid against extracellular and intracellular *Staphylococcus aureus*: influence of pH and comparison with linezolid and clindamycin / S. Lemaire, F. Van Bambeke, D. Pierard [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2011. – Vol. 52, Suppl. 7. – P. S493–503.
157. Lentino, J.R. Prosthetic joint infections: bane of orthopedists, challenge for infectious disease specialists / J.R. Lentino // *Clin. Infect. Dis.* – 2003. – Vol. 36, N 9. – P. 1157–1161.
158. Leone, S. Consensus document on controversial issues in the diagnosis and treatment of prosthetic joint infections / S. Leone, S. Borre, A. Monforte [et al.] // *Int. J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 14, Suppl. 4. – P. S67–77.
159. Levine, B.R. Use of the extended trochanteric osteotomy in treating prosthetic hip infection / B.R. Levine, C.J. Della Valle, M. Hamming [et al.] // *J. Arthroplasty.* – 2009. – Vol. 24. – P. 49–55.
160. Lichstein, P. [et al.] One-stage vs two-stage exchange / P. Lichstein, T. Gehrke, A. Lombardi // *J. Arthroplasty.* – 2014. – Vol. 29, 2 Suppl. – P. 108–111
161. Lie, S.A. Dependency issues in survival analyses of 55,782 primary hip replacements from 47,355 patients / S.A. Lie, L.B. Engesaeter, L.I. Havelin [et al.] // *Stat Med.* – 2004. – Vol. 23. – P. 3227–3240.
162. Lie, S.A. Failure rates for 4762 revision total hip arthroplasties in the Norwegian Arthroplasty Register / S.A. Lie, L.I. Havelin, O.N. Furnes [et al.] // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 2004. – Vol. 86, N 4. – P. 504–509.

163. Lin, C. Healing effect of bioactive glass ointment on full-thickness skin wounds / C. Lin, C. Mao, J. Zhang [et al.] // *Biomed. Mater.* – 2012. – Vol. 7, N 4. – P. 11.
164. Lin, M. Inhibitory Effects of 1,2,3,4,6-Penta-O-Galloyl- β -d-Glucopyranose on Biofilm Formation by *Staphylococcus aureus* / M. Lin, F. Chang, M. Hua, Y. Wu, S. Liu // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2011. – Vol. 55. – P. 1021–1027.
165. Liu, C. Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america for the treatment of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children / C. Liu, A. Bayer, S.E. Cosgrove [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2011. – Vol. 52. – P. 1–38.
166. Liu, X. Bioactive borate glass scaffolds: *in vitro* and *in vivo* evaluation for use as a drug delivery system in the treatment of bone infection / X. Liu, Z. Xie, C. Zhang [et al.] // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2010. – Vol. 2. – P. 575–582.
167. Logroscino, G. The use of collatamp in total hip arthroplasty / G. Logroscino, G. Malerba, E. Pagano [et al.] // *Acta Biomed.* – 2011. – Vol. 82, N 2. – P. 154–159.
168. Logroscino, G. Nano-hydroxyapatite/chitosan/konjac glucomannan scaffolds loaded with cationic liposomal vancomycin: preparation, *in vitro* release and activity against *Staphylococcus aureus* biofilms / G. Logroscino, B.C. Shang, H. Tang [et al.] // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* – 2011. – Vol. 12. – P. 1669–1681.
169. Ma, X. Theranostic nanoparticles engineered for clinic and pharmaceuticals / X. Ma, Y. Zhao, X.J. Liang // *Acc. Chem. Res.* – 2011. – Vol. 10. – P. 1114–1122.
170. Maderazo, E.G. Late infections of total joint prostheses. A review and recommendations for prevention / E.G. Maderazo, S. Judson, H. Pasternak // *Clin. Orthop. Rel. Res.* – 1988. – Vol. 229. – P. 131–142.
171. Maier, G.S. In vitro elution characteristics of gentamicin and vancomycin from synthetic bone graft substitutes / G.S. Maier, K.E. Roth, S. Andereya [et al.] // *Open Orthop. J.* – 2013. – Vol. 7. – P. 624–629.
172. Manson-Siddle, E. Hip and knee replacement in older people – met and unmet need / E. Manson-Siddle, J. Davis, A. Travers // *J. Epidemiol.* – 1999. – Vol. 53, N 10. – P. 663–664.

173. Marculescu, C.E. Polymicrobial prosthetic joint infections / C.E. Marculescu, J.R. Cantey // Clin. Orthop. Relat. Res. – 2008. – Vol. 466. – P. 1397–1404.
174. Martínez–Pastor, J.C. Outcome of acute prosthetic joint infections due to gram–negative bacilli treated with open debridement and retention of the prosthesis / J.C. Martínez–Pastor, E. Munoz–Mahamud, F. Vilchez [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2009. – Vol. 53, N 11. – P. 4772–4777.
175. Masri, B.A. The modified two staged exchange arthroplasty in the treatment of infected total knee replacement: The Prostalac system and other articulated spacers / B.A. Masri, C.P. Duncan, C.P. Beauchamp [et al.] // Revision Total Knee Arthroplasty. 1997. – Vol. 13. – P. 394–424.
176. Mathur, T. Adverse effect of staphylococci slime on *in vitro* activity of glycopeptides / T. Mathur, S. Singhal, S. Khan [et al.] // Jpn. J. Infect. Dis. – 2005. – Vol. 58. – P. 353–357.
177. Matthews, P.C. Diagnosis and management of prosthetic joint infection / P.C. Matthews, A.R. Berendt, M.A. McNally, I. Byren // BMJ. – 2009. – Vol. 338. – P. b1773.
178. McCann, M.T. *Staphylococcus epidermidis* device–related infections: pathogenesis and clinical management / M.T. McCann, B.F. Gilmore, S.P. Gorman // J. Pharm. Pharmacol. – 2008. – Vol. 60. – P. 1551–1571.
179. Mendel, V. Therapy with gentamicin-PMMA beads, gentamicin-collagen sponge, and cefazolin for experimental osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus* in rats / V. Mendel, H.J. Simanowski, H.C. Scholz, H. Heymann // Arch. Orthop. Trauma Surg. – 2005. – Vol. 125, N 6. – P. 363–368.
180. Metsemakers, W.J. A doxycycline-loaded polymer-lipid encapsulation matrix coating for the prevention of implant-related osteomyelitis due to doxycycline-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / W.J. Metsemakers, N. Emanuel, O. Cohen [et al.] // J. Control. Release. – 2015. – Vol. 209. – P. 47–56.
181. Meyer, J. Vacuum–mixing significantly changes antibiotic elution characteristics of commercially available antibiotic-impregnated bone cements / J. Meyer, G. Piller, C.A. Spiegel [et al.] // J. Bone Joint Surg. Am. – 2011. – Vol. 93, N 22. – P. 2049–2056.

182. Michalak, K.A. Iontophoresed segmental allografts in revision arthroplasty for infection / K.A. Michalak, P.P. Khoo, P.J. Yates [et al.] // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 2006. – Vol.88–B, N 11. – P. 1430–1437.
183. Michalopoulos, A.S. The revival of fosfomycin / A.S. Michalopoulos, I.G. Livaditis, V. Gougoutas // *Int J Infect Dis.* – 2011. – Vol. 15. – P. e732–e739. doi:10.1016/j.ijid.2011.07.007
184. Miclau, T.H. Bone toxicity of locally applied aminoglycosides / T.H. Miclau, M.L. Edin, G.E. Lester [et al.] // *J. Orthop. Trauma.* – 1995. – Vol. 9. – P. 401–406.
185. Moise–Broder, P. Accessory gene regulator group II polymorphism in methicillin–resistant *Staphylococcus aureus* is predictive of failure of vancomycin therapy / P. Moise–Broder, G. Sakoulas, G.M. Eliopoulos [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 38, N 12. – P. 1700–1705.
186. Montanario, L. Scenery of *Staphylococcus* implant infections in orthopedics / L. Montanario, P. Speziale, D. Campoccia [et al.] // *Future Microbiology.* – 2011. – Vol. 6. – P. 1329–1349.
187. Moran, E. Guiding empirical antibiotic therapy in orthopaedics: the microbiology of prosthetic joint infection managed by debridement, irrigation and prosthesis retention / E. Moran, S. Masters, A.R. Berendt [et al.] // *J. Infect.* – 2007. – Vol. 55. – P. 1–7.
188. Morawietz, L. Proposal for a histopathological consensus classification of the periprosthetic interface membrane / L. Morawietz, R.A. Classen, J.H. Schroder [et al.] // *J. Clin. Pathol.* – 2006. – Vol. 59, N 6. – P. 591–597.
189. Morawietz, L. Twenty–three neutrophil granulocytes in 10 high–power fields is the best histopathological threshold to differentiate between aseptic and septic endoprosthesis loosening / L. Morawietz, O. Tiddens, M. Mueller [et al.] // *Histopathology.* – 2009. – Vol. 54. – P. 847–853.
190. Murdoch, D.R. Vertebral osteomyelitis due to *Staphylococcus lugdunensis* / D.R. Murdoch, R.J. Everts, S.T. Chambers, I.A. Cowan // *J. Clin. Microbiol.* – 1996. – Vol. 34. – P. 993–994.
191. Murdoch, D.R. Infection of orthopedic prostheses after *Staphylococcus aureus* bacteremia / D.R. Murdoch, S. Roberts, V.J. Fowler [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2001. – Vol. 32. – P. 647–649.

192. Nelson, C.L. The treatment of experimental osteomyelitis by surgical debridement and the implantation of calcium sulfate tobramycin pellets) / C.L. Nelson, S.G. McLaren, R.A. Skinner [et al.] // J. Orthop. Res. – 2002. – Vol. 20. – P. 643–647.
193. Neut, D. A biodegradable antibiotic delivery system based on poly-(trimethylene carbonate) for the treatment of osteomyelitis / D. Neut, O.S. Kluin, B.J. Crielaard [et al.] // Acta Orthop. – 2009. – Vol. 5. – P. 514–519.
194. Neut, D. Biomaterial-associated infection of gentamicin-loaded PMMA beads in orthopaedic revision surgery / D. Neut, H. van de Belt, I. Stokroos [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 2001. – Vol. 47. – P. 885–891.
195. Nishimura, S. Chronic renal failure due to amyloid nephropathy caused by chronic infection after total hip replacement / S. Nishimura, T. Matsumae, Y. Murakami [et al.] // CEN Case Reports. – 2014. – Vol. 3, N 2. – P. 217–222.
196. Noel, S.P. Chitosan films a potential local drug delivery system for antibiotics / S.P. Noel, H. Courtney, J.D. Bumgardner, W.O. Haggard // Clin. Orthop. Relat. Res. – 2008. – Vol. 466. – P. 1377–1382.
197. Nunez, L.V. Frozen sections of samplestaken intraoperatively for diagnosis of infection in revision hip surgery / L.V. Nunez, M.A. Buttaro, A. Morandi [et al.] // Acta Orthop. – 2007. – Vol. 78. – P. 226–230.
198. Nymer, M. Immune responses to indwelling medical devices in springer series on biofilms / M. Nymer, E.Cope, R. Brady [et al.]. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2008. doi: 10.1007/7142_2008_4 59 59
199. Oga, M.N. Surgical biomaterials and differential colonization by *Staphylococcus epidermidis* / M.N. Oga, Y.S. Sugioka, C.D. Hobgood [et al.] // Biomaterials. – 1988. – Vol. 9. – P. 285–289.
200. O'Gara, J.P. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications / J.P. O'Gara, H. Humphreys // J. Med. Microbiol. – 2001. – Vol. 50. – P. 582–587.
201. Olson, M. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics / M. Olson, H. Ceri, D.V. Morck // Can. J. Veterin. Rese. – 2002. – Vol. 66. – P. 86–92.
202. Ong, K.L. Prosthetic joint infection risk after total hip arthroplasty in the Medicare population / K.L. Ong, S.M. Kurtz, E. Lau [et al.] // J. Arthroplasty. – 2009. – Vol. 24. – P. 105–109.

203. Ordikhani, F. Characterization and antibacterial performance of electrodeposited chitosan-vancomycin composite coatings for prevention of implant-associated infections / F. Ordikhani, E. Tamjid, A. Simchi // *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* – 2014. – Vol. 1. – P. 240–248.

204. Osmon, D.R. Infectious Diseases Society of America Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America / D.R. Osmon, E.F. Berbari, A.R. Berendt [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 56, N 1. – P. e1–e25.

205. Otto, M. Coagulase-negative staphylococci as reservoirs of genes facilitating MRSA infection: Staphylococcal commensal species such as *Staphylococcus epidermidis* are being recognized as important sources of genes promoting MRSA colonization and virulence / M. Otto // *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology.* – 2013. – Vol. 35. – P. 4–11.

206. Otto, M. Staphylococcal biofilms / M. Otto // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 2008. – Vol. 322. – P. 207–228.

207. Palestro, C.J. Combined labeled leukocyte and technetium 99m sulfur colloid bone marrow imaging for diagnosing musculoskeletal infection / C.J. Palestro, C. Love, G.G. Tronco [et al.] // *Radiographics.* – 2006. – Vol. 26. – P. 859–870.

208. Pandey, R. Histological and microbiological findings in non-infected and infected revision arthroplasty tissues. The OSIRIS Collaborative Study Group. Oxford Skeletal Infection Research and Intervention Service / R. Pandey, A. Berendt, N. Athanasou // *Arch. Orthop. Trauma Surg.* – 2000. – Vol. 120. – P. 570–574.

209. Parvizi, J. New definition for periprosthetic joint infection / J. Parvizi // *Am. J. Orthop.* – 2011. – Vol. 40, N 12. – P. 614–615.

210. Parvizi, J. Definition of periprosthetic joint infection: is there a consensus? / J. Parvizi, Ch. Jacovides, B. Zmistowski, K.A. Jung // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 2011. – Vol. 469, N 11. – P. 3022–3030.

211. Patel, M.P. Chitosan mediated targeted drug delivery system: a review / M.P. Patel, R.R. Patel, J.K. Patel // *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* – 2010. – Vol. 13, N 3. – P. 536–557.

212. Peel, T.N. Microbiological aetiology, epidemiology, and clinical profile of prosthetic joint infections: are current antibiotic prophylaxis guidelines effective? / T.N.

Peel, A.C. Cheng, K.L. Buising, P.F. Choonga // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2012. – Vol. 56. – P. 2386–2391.

213. Peel, T.N. Cost analysis of debridement and retention for management of prosthetic joint infection / T.N. Peel, M.M. Dowsey, K.L. Buising [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2011. – Vol. 10. – P. 1469–1491.

214. Penner, M.J. The *in vitro* elution characteristics of antibioticloaded CMW and Palacos-R bone cements / M.J. Penner, C.P. Duncan, B.A. Masri // *J. Arthroplasty.* – 1999. – Vol. 14. – P. 209–214.

215. Perka, C. Periprosthetic infection / C. Perka, N. Haas // *Chirurg.* – 2011. – Vol. 82, N 3. – P. 218–226.

216. Phillips, C.B. Incidence rates of dislocation, pulmonary embolism, and deep infection during the first six months after elective total hip replacement / C.B. Phillips, J.A. Barrett, E. Losina [et al.] // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 2003. – Vol. 85, N 1. – P. 20–26.

217. Phillips, J.E. The incidence of deep prosthetic infections in a specialist orthopaedic hospital: a 15-year prospective survey / J.E. Phillips, T.P. Crane, M. Noy [et al.] // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 2006. – Vol. 88. – P. 943–948.

218. Zecheru, T. Poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-dodecyl methacrylate-co-acrylic acid): synthesis, physic-chemical characterisation and nafcillin carrier / T. Zecheru, T. Rotariu, E. Rusen [et al.] // *J. Mater. Sci–Mater. Med.* – 2010.– Vol. 21, N 10. – P. 2793–2804

219. Puhto, A. Short-course antibiotics for prosthetic joint infections treated with prosthesis retention / A. Puhto, T. Puhto, H. Syrjala // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2012. – Vol. 18. – P.1143–1148.

220. Pulido, L. Periprosthetic joint infection: the incidence, timing, and predisposing factors / L. Pulido, E. Ghanem, A. Joshi [et al.] // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 2008. – Vol. 466. – P. 1710–1715.

221. Raad, I. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: catheter colonization, esp gene, and decreased susceptibility to antibiotics in biofilm / I. Raad, H. Hanna, M. Boktour [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2005. – Vol. 49, N 12. – P. 5046–5050.

222. Raad, I. Comparative activities of daptomycin, linezolid, and tigecycline against catheter-related methicillin-resistant *Staphylococcus* bacteremic isolates

embedded in biofilm / I. Raad, H. Hanna, Y. Jiang [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2007. – Vol. 51, N 5. – P. 1656–1660.

223. Raja, A.F. Antistaphylococcal and biofilm inhibitory activities of acetyl-11-keto- β -boswellic acid from *Boswellia serrata* / A.F. Raja, A. Furqan, A.Kh. Inshad [et al.] // *BMC Microbiology.* – 2011. – Vol. 11. – P. 1–9.

224. Rao, N. Successful treatment of chronic bone and joint infections with oral linezolid. / N. Rao, B.H. Ziran, R.A. Hall, E.R. Santa // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 2004. – N 427. – P. 67–71.

225. Raschke, M.J. Biological coating of implants in trauma and orthopedic surgery / M.J. Raschke, G. Schmidmaier // *Unfallchirurg.* – 2004. – Vol. 8. – P. 653–663.

226. Rathbone, C.R. Effect of various concentrations of antibiotics on osteogenic cell viability and activity / C.R. Rathbone, J.D. Cross, K.V. Brown [et al.] // *J. Orthop. Res.* – 2011. – Vol. 29, N 7. – P. 1070–1074.

227. Rayner, C.R. Linezolid in the treatment of osteomyelitis: results of compassionate use experience / C.R. Rayner, L.M. Baddour, M.C. Birmingham [et al.] // *Infection.* – 2004. – Vol. 32. – P. 8–14.

228. Rice, D.A.K. Daptomycin in bone and joint infections: a review of the literature / D.A.K. Rice, L. Mendez-Vigo // *Arch. Orthop. Trauma. Surg.* – 2009. – Vol. 129. – P.1495–1504.

229. Roberts, M.E. Modeling antibiotic tolerance in biofilms by accounting for nutrient limitation / M.E. Roberts, P.S. Stewart // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2004. – Vol. 48. – P. 48–52.

230. Robinson, D. Inflammatory reactions associated with a calcium sulfate bone substitute / D. Robinson, D. Alk, J. Sandbank [et al.] // *Ann. Transplant.* – 1999. – Vol. 4. – P. 91–97.

231. Rose, W.E. Impact of biofilm on the *in vitro* activity of vancomycin alone and in combination with tigecycline and rifampicin against *Staphylococcus aureus* / W.E. Rose, P.T. Poppens // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2008. – Vol. 63. – P. 485–488.

232. Rudelli, S. One-stage revision of infected total hip arthroplasty with bone graft / S. Rudelli, D. Uip, E. Honda, A.L. Lima // *J. Arthroplasty.* – 2008. – Vol. 23, N 8. – P. 1165–1177.

233. Ryan, M.J. Bacterial joint infections in England and Wales: analysis of bacterial isolates over a four year period / M.J. Ryan, R. Kavanagh, P.G. Wall, B.L. Hazleman // *Br. J. Rheumatol.* – 1997. – Vol. 36. – P. 370–373.
234. Rybak, M. Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: A consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists / M. Rybak, B. Lomaestro, J.C. Rotschafer [et al.] // *Am. J. Health-Syst. Pharm.* – 2009. – Vol. 66. – P. 82–98.
235. Sampath, S.S. Preparation and characterization of biodegradable poly(L-lactic acid) gentamicin delivery systems / S.S. Sampath, K. Garvin, D.H. Robinson // *Int. J. Pharm.* – 1992. – Vol. 78. – P. 165–174.
236. Schäfer, P. Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection: a promising strategy / P. Schäfer, B. Fink, D. Sandow [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 47. – P. 1403–1409.
237. Schinsky, M.F. Perioperative testing for joint infection in patients undergoing revision total hip arthroplasty / M.F. Schinsky, C.J. Della Valle, S.M. Sporer, W.G. Paprosky // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 2008. – Vol. 90. – P. 1869–1875.
238. Schoenfelder, S.M. Success through diversity – how *Staphylococcus epidermidis* establishes as a nosocomial pathogen / S.M. Schoenfelder, C. Lange, M. Eckart [et al.] // *Int. J. Med. Microbiol.* – 2010. – Vol. 300. – P. 380–386.
239. Serradel, J.S. Drug utilization study methodologies: national and international perspectives / J.S. Serradel, D.C. Bjornson, A.G. Hartzema // *Drug Intell. Clin. Pharm.* – 1987. – Vol. 21. – P. 994–1001.
240. Shi, P. Gentamicin-impregnated chitosan/nanohydroxyapatite/ethyl cellulose microspheres granules for chronic osteomyelitis therapy / P. Shi, Y. Zuo, X. Li [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2010. – Vol. 93, N 3. – P. 1020–1023.
241. Shirtliff, M.E. Molecular interactions in biofilms / M.E. Shirtliff, J.T. Mader, A.K. Camper // *Chem. Biol.* – 2002. – Vol. 9. – P. 859–871.
242. Silverman, L.D. Release of gentamicin from a tricalcium phosphate bone implant / L.D. Silverman, L. Lukashova, O.N. Herman // *J. Orthop. Res.* – 2007. – Vol. 25, N 1. – P. 23–29.

243. Singh, R. Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms / R. Singh, P. Ray, A. Das, M. Sharma // J. Antimicrob. Chemother. – 2010. – Vol. 65. – P. 1955–1958.
244. Sirot, J. Diffusion de la fosfomicine dans le tissu osseux chez l'homme / J. Sirot, R. Lopitiaux, C. Dumont [et al.] // Pathol. Biol. Paris 1983; 31:522–524.
245. Skoulas, G. Adaptation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the face of vancomycin therapy / G. Skoulas, R.C. Moellering Jr., G.M. Eliopoulos // Clin. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 42, Suppl. 1. – P. S40–50.
246. Smith, K. Biofilm formation by Scottish clinical isolates of *Staphylococcus aureus* / K. Smith, A. Perez, G. Ramage [et al.] // J. Med. Microbiol. – 2008. – Vol. 57. – P. 1018–1023.
247. Sørensen, T.S. Rapid release of gentamicin from collagen sponge: *in vitro* comparison with plastic beads / T.S. Sørensen, A.I. Sørensen, S. Merser // Acta Orthop. Scand. – 1990. – Vol. 61. – P. 353–356.
248. Sorlí, L. The relationship between microbiology results in the second of a two-stage exchange procedure using cement spacers and the outcome after revision total joint replacement for infection: the use of sonication to aid bacteriological analysis / L. Sorlí, L. Puig, R. Torres-Claramunt [et al.] // J. Bone Joint Surg. Br. – 2012. – Vol. 94, N 2. – P. 249–253.
249. Steinberg, D.R. The early history of arthroplasty in the United States / D.R. Steinberg, M.E. Steinberg // Clin. Orthop. – 2000. – N 374. – P. 55–89.
250. Sterling, G.J. The pharmacokinetics of Simplex – tobramycin bone cement / G.J. Sterling, S.L. Crawford, J.H. Potter [et al.] // J. Bone Joint Surg. – 2003. – Vol. 85. – P. 646–649.
251. Stewart, P.S. Diffusion in biofilms / P.S. Stewart // J. Bacteriol. – 2003. – Vol. 185. – P. 485–491.
252. Su, W.Y. A new type of biphasic calcium phosphate cement as a gentamicin carrier for osteomyelitis / W.Y. Su, Y.C. Chen, F.H. Lin // Evidence-based complementary and alternative medicine. Volume. 2013. Article ID 801374.
253. Sugita, T. Antifungal activities of tacrolimus and azole agents against the eleven currently accepted *Malassezia* species / T. Sugita, M. Tajima, T. Ito [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 4. – P. 2824–2829.

254. Thomes, B.L. Development of resistant strains of *Staphylococcus epidermidis* on gentamicin-loaded bone cement *in vivo* / B.L. Thomes, P.K. Murray, D.P. Bouchier-Hayes // J. Bone Joint Surg. – 2002. – Vol. 84. – P. 758–760.

255. Till, M. Linezolid treatment for osteomyelitis due to vancomycin-resistant enterococcus faecium / M. Till, R.L. Wixson, P.E. Pertel // Clin. Infect. Dis. – 2002. – Vol. 34. – P. 1412–1414.

256. Trampuz, A. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection / A. Trampuz, K.E. Piper, M.J. Jacobson [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2007. – Vol. 357. – P. 654–663.

257. Trampuz, A. Diagnosis and treatment of implant-associated septic arthritis and osteomyelitis / A. Trampuz, W. Zimmerli // Cur. Infect. Dis. Rep. – 2008. – Vol. 10. – P. 394–403.

258. Traunmüller, F. Soft tissue and bone penetration abilities of daptomycin in diabetic patients with bacterial foot infections / F. Traunmüller, M.V. Schintler, Ju. Metzler [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 2010. doi:10.1093/jac/dkq109

259. Tunney, M.M. Biofilm formation by bacteria isolated from retrieved failed prosthetic hip implants in an *in vitro* model of hip arthroplasty antibiotic prophylaxis / M.M. Tunney, N. Dunne, G. Einarsson [et al.] // J. Orthop. Res. – 2007. – Vol. 25, N 1. – P. 2–10.

260. Tunney, M.M. Biofilm formation by bacteria isolated from retrieved failed prosthetic hip implants in an *in vitro* model of hip arthroplasty antibiotic prophylaxis / M.M. Tunney, N. Dunne, G. Einarsson [et al.] // J. Orthop Res. – 2007. – Vol. 25, N 1. – P. 2–10.

261. Tunney, M.M. Improved detection of infection in hip replacements A currently underestimated problem / M.M. Tunney, S.K. Patrick, S.P. Gorman [et al.] // J. Bone Joint Surg. – 1998. – Vol. 80. – P. 568–572.

262. McPherson, E.J. Dissolvable antibiotic beads in treatment of periprosthetic joint infection and revision arthroplasty – the use of synthetic pure calcium sulfate (STIMULAN) impregnated with vancomycin and tobramycin. Reconstructive Review / E.J. McPherson, M.V. Dipane, S.M. Sherif // Joint Implant Surgery and Research Foundation. – 2013. – N3. – P. 32–43

263. U.K. Health Protection Agency, 2008. Surgical Site Infection – National aggregated data on Surgical Site Infections for hospitals that have participated in

Surgical Site Infection Surveillance Scheme (SSISS) between October 1997 and December 2005. <http://www.hpa.org.uk/HPA/Topics/InfectiousDiseases/InfectionsAZ/1202115536296/>.

264. Uskoković, V. Nanostructured platforms for the sustained and local delivery of antibiotics in the treatment of osteomyelitis / V. Uskoković // *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* – 2015. – Vol. 32, N 1. – P. 1–59.

265. Uskoković, V. Lactide-co-glycolide powders for the treatment of osteomyelitis / V. Uskoković, C. Hoover, M. Vukomanović [et al.] // *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* – 2013. – Vol. 33, N 6. – P. 3362–3373.

266. Vallianou, N. Vertebral osteomyelitis and native valve endocarditis due to *Staphylococcus simulans*: a case report / N. Vallianou, A. Evangelopoulos, P. Makri [et al.] // *J. Med. Case Reports.* – 2008. – Vol. 2. – P. 183.

267. Wei, G. A bioabsorbable delivery system for antibiotic treatment of osteomyelitis: the use of lactic acid oligomer as a carrier / G. Wei, Y. Kotoura, M. Oka [et al.] // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 1991. – Vol. 73. – P. 246–252.

268. Weigel, L.M. High-level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with a polymicrobial biofilm / L.M. Weigel, R.M. Donlan, D.H. Shin [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2007. – Vol. 51. – P. 231–238.

269. Widmer, A.F. et al. Antimicrobial treatment of orthopedic implant-related infections with rifampin combinations. / A.F. Widmer, A. Gaechter, P.E. Ochsner, W. Zimmerli // *Clin Infect Dis.* – 1992. – Vol. 14. – P. 1251–1253.

270. Wienert, S. Detection and segmentation of cell nuclei in virtual microscopy images: a minimum-model approach / S. Wienert, D. Heim, K. Saeger [et al.] // *Sci. Rep.* – 2012. – Vol. 2. – P. 503.

271. Wienert, S. Cogniton Master: an object-based image analysis framework / S. Wienert, D. Heim, M. Kotani [et al.] // *Diagn. Pathol.* – 2013. – Vol. 8. – P. 34.

272. Wilson, M. Infection as a complication of total knee-replacement arthroplasty. Risk factors and treatment in sixtyseven cases / M. Wilson, K. Kelley, T. Thornhill // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 1990. – Vol. 72. – P. 878–883.

273. Winkler, H. Rationale for one stage exchange of infected hip replacement using uncemented implants and antibiotic impregnated bone graft / H. Winkler // *Int. J. Med. Sci.* – 2009. – Vol. 6, N 5. – P. 247–252.

274. Winkler, H. In vitro release of vancomycin and tobramycin from impregnated human and bovine bone grafts / H. Winkler, O. Janata, C. Berger [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 2000. Vol. 46, N 3. – P.423–428.
275. Winkler, H. One stage uncemented revision of infected total hip replacement using cancellous allograft bone impregnated with antibiotics / H. Winkler, A. Stoiber, K. Kaudela [et al.] // J. Bone Joint Surg Br. – 2008. – Vol. 90, N 12. – P. 1580–1584.
276. Witsø, E. High local concentrations without systemic adverse effects after impaction of netilmicin-impregnated bone / H. Winkler, L. Persen, P. Benum [et al.] // Acta Orthop. Scand. – 2004. – Vol. 75, N 3. – P. 339–373.
277. Wu, Wen-Shiann Efficacy of combination oral antimicrobial agents against biofilm-embedded methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Microbiology / Wen-Shiann Wu, Chi-Chung Chen, Yin-Ching Chuang [et al.] // Immunol. Infect. – 2013. – Vol. 46. – P. 89–95.
278. Yamaoka, T. The bactericidal effects of anti-MRSA agents with rifampicin and sulfamethoxazole-trimethoprim against intracellular phagocytized MRSA / T. Yamaoka // J. Infect. Chemother. – 2007. – Vol. 13. – P. 141–146.
279. Yin, L.Y. Comparative evaluation of tigecycline and vancomycin with and without rifampicin, in the treatment of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* experimental osteomyelitis in a rabbit model / L.Y. Yin, L. Lazzarini, F. Li [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 2005. – Vol. 55. – P. 995–1002.
280. Young, S.W. The Mark Coventry Award: Higher tissue concentrations of vancomycin with low-dose intraosseous regional versus systemic prophylaxis in TKA: a randomized trial / S.W. Young, M. Zhang, J.T. Freeman [et al.] // Clin. Orthop. Relat. Res. – 2014. – Vol. 472, N 1. – P. 57–65.
281. Zheng, Z. Penetration of Rifampin through *Staphylococcus epidermidis* Biofilms / Z. Zheng, P.S. Stewart // Antimicrob. Agents Chemother. – 2002. Vol. 46. – P. 900–903.
282. Ziebuhr, W. Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermidis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen / W. Ziebuhr, S. Hennig, M. Eckart [et al.] // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2006. – Vol. 28, Suppl. 1. – P. 14–20.
283. Zilberman, M. Antibiotic-eluting medical devices for various applications / M. Zilberman, J.J. Elsner // J. Control. Relat. – 2008. – Vol. 130. – P. 202–215.

284. Zimmerli, W. Management of infections associated with prosthetic joints / W. Zimmerli, P.E. Ochsner // *Infection*. – 2003. – Vol. 31. – P. 99–108.
285. Zimmerli, W. Prosthetic–joint infections / W. Zimmerli, A. Trampuz, P. Ochsner // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 351. – P. 1645–1654.
286. Zimmerli, W. Role of rifampin for treatment of orthopedic implant–related staphylococcal infections: a randomized controlled trial. Foreign-Body Infection (FBI) Study Group / W. Zimmerli, A.F. Widmer, M. Blatter [et al.]. // *JAMA*. – 1998. – Vol. 79. – P. 1537–1541.
287. Zimmerli, W. Infection and musculoskeletal conditions: prosthetic joint–associated infections / W. Zimmerli // *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* – 2006. – Vol. 20. – P. 1045–1063.
288. Zimmerli, W. Biomaterials–associated infection: a perspective from the clinic / W. Zimmerli, A. Trampuz // *Biomaterials associated infection: immunological aspects and antimicrobial strategies*. – NY., Heidelberg Dordrecht: London: Springer, 2013. – P. 3–24.
289. Zimmerli, W. Pathogenesis and treatment concepts of orthopaedic biofilm infections / W. Zimmerli, C. Moser // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* – 2012. – Vol. 65, N 2. – P. 158–168.
290. Zmistowski, B. Diagnosis of periprosthetic joint infection / B. Zmistowski, C. Della Valle, T.W. Bauer, K.N. Malizos // *J. Orthop. Res.* – 2014. – Vol. 32. – P. 98–107.