

Фосфомицин — возможности применения для локальной терапии перипротезной инфекции

С.А. Божкова¹, Е.М. Полякова¹, А.В. Афанасьев¹, Д.В. Лабутин¹,
Г.В. Ваганов², В.Е. Юдин²

¹ФГБУ «Российский НИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

²ФГБУН «Институт высокомолекулярных соединений РАН», Санкт-Петербург, Россия

Цель. *In vitro* оценка возможности применения фосфомицина для локальной терапии перипротезной инфекции в составе костного цемента на основе полиметилметакрилата.

Материал и методы. Исследован спектр ведущих возбудителей перипротезной инфекции, выделенных у больных в 2013–2014 гг. Определена чувствительность 358 клинических изолятов *S. aureus* и 19 *E. coli* к ванкомицину, фосфомицину и гентамицину. Протестирована длительность антимикробной активности контрольных образцов гентамициносодержащего костного цемента (DEPUY CMW 1 GENTAMICIN) и опытных, содержащих дополнительно (в расчете на 20 г цемента) 1 и 2 г (5 и 10%) ванкомицина, 2 и 4 г (10 и 20%) фосфомицина. Активность исследовали в отношении референтных штаммов (из коллекции ATCC) MSSA, MRSA, *K. pneumoniae* и *E. coli*. Определены предел прочности на изгиб и сжатие, модуль упругости всех тестируемых образцов цемента.

Результаты. Ведущие патогены перипротезной инфекции — представители бактериальных семейств: *Staphylococcaceae* (57,6%) и *Enterobacteriaceae* (10,1%). Среди стафилококков лидировал *S. aureus*, включая 21,8% MRSA, среди представителей *Enterobacteriaceae* — *Klebsiella pneumoniae* (36,1%) и *Escherichia coli* (12,1%). Существенных различий активности ванкомицина, гентамицина и фосфомицина в отношении штаммов MSSA не установлено, в отношении MRSA активность гентамицина

была существенно ниже фосфомицина ($p < 0,01$). Резистентных к ванкомицину изолятов не выявлено. Чувствительными среди *E. coli* к фосфомицину были 100% (МПК ≤ 32 мкг/мл), к гентамицину — 63,2% ($p < 0,05$). Наименьшая продолжительность антимикробной активности установлена у контрольных образцов гентамициносодержащего цемента. Образцы с 5% ванкомицина были активны в течение 2 суток в отношении MRSA и *E. coli*, 3 и 5 суток — в отношении MSSA и *K. pneumoniae* соответственно. Увеличение концентрации ванкомицина в 2 раза не привело к значимому продлению антимикробной активности. Образцы с 10 и 20% фосфомицина подавляли рост MRSA в течение 3 и 5 суток соответственно, MSSA и *K. pneumoniae* — 28 суток, *E. coli* — 17 суток. Существенные изменения в показателях прочности в сравнении с контрольными образцами отмечены при добавлении ванкомицина (10%) и фосфомицина (20%).

Выводы. Фосфомицин характеризуется высокой активностью в отношении ведущих возбудителей перипротезной инфекции. Его добавление в гентамициносодержащий костный цемент существенно увеличивает продолжительность антимикробного действия. Представляется перспективным применение гентамициносодержащего костного цемента с добавлением фосфомицина (10%) для формирования спейсеров при лечении перипротезной инфекции.

Ключевые слова: перипротезная инфекция, возбудители, фосфомицин, антибиотикосодержащий костный цемент, прочность костного цемента.

Контактный адрес:

Светлана Анатольевна Божкова

Эл. почта: clinpharm-rniito@yandex.ru

Potential for the Use of Fosfomycin in the Topical Treatment of Periprosthetic Joint Infection

S.A. Bozhkova¹, E.M. Polyakova¹, A.V. Afanasiev¹, D.V. Labutin¹, G.V. Vaganov², V.E. Yudin²

¹ Russian Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after R.R. Vreden, Saint-Petersburg, Russia

² Institute of Macromolecular Compounds of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia

Objective. To assess a potential for the use of fosfomycin as a component of polymethyl methacrylate-based bone cement in the topical treatment of periprosthetic infection.

Materials and Methods. The most common pathogens of periprosthetic joint infection isolated during the 2013–2014 were studied. Susceptibility of 358 *S. aureus* and 19 *E. coli* strains to vancomycin, fosfomycin, and gentamicin was determined. Antimicrobial activity duration for the control samples of the gentamicin-containing bone cement (DEPUY CMW 1 GENTAMICIN) and the experimental samples with addition (per 20 g of cement) of 1 g or 2 g of vancomycin (5% or 10%), 2 g or 4 g of fosfomycin (10% or 20%) was investigated. Antimicrobial activity was tested against reference ATCC strains of MSSA, MRSA, *K. pneumoniae* and *E. coli*. Ultimate strength against bending and compression, and coefficient of elasticity were determined for all cement samples tested.

Results. The members of *Staphylococcaceae* (57.6%) and *Enterobacteriaceae* (10.1%) families were the common pathogens of periprosthetic infection. *S. aureus* (including 21.8% of MRSA) was a leading pathogen; *Klebsiella pneumoniae* (36.1%) and *Escherichia coli* (12.1%) were the most predominant pathogens among *Enterobacteriaceae*. No significant differences in anti-MSSA activity between vancomycin, gentamicin and fosfomycin were found. Gentamicin was significantly less active against MRSA than fosfomycin

($p < 0.01$). No vancomycin-resistant *S. aureus* isolates were observed. Susceptibility of *E. coli* isolates to fosfomycin and gentamicin was 100% (MIC ≤ 32 mcg/ml) and 63.2%, respectively ($p < 0.05$). The control samples of the gentamicin-containing bone cement demonstrated the least antimicrobial activity duration. The samples with 5% vancomycin remained active against MRSA and *E. coli* for 2 days and against MSSA and *K. pneumoniae* for 3 days and 5 days, respectively. The 2-fold increase in vancomycin concentration failed to prolong antimicrobial activity substantially. The samples with 10% or 20% fosfomycin were active against MRSA for 3 days and 5 days, respectively, and against MSSA and *K. pneumoniae* for 28 days, and against *E. coli* for 17 days. Significant changes in the bone cement strength measures compared to the control samples were noted when adding vancomycin (10%) and fosfomycin (20%).

Conclusion. Fosfomycin has a high activity against the most common pathogens of periprosthetic joint infection. Its addition to the gentamicin-containing bone cement significantly prolongs antimicrobial activity duration. Administration of gentamicin-containing bone cement with 10% fosfomycin for the spacer formation in the treatment of periprosthetic infection may be considered useful.

Key words: periprosthetic joint infection, pathogens, fosfomycin, antibiotic-containing bone cement, bone cement strength

Введение

Частота развития перипротезной инфекции (ППИ) после первичного эндопротезирования крупных суставов в настоящее время составляет 0,3–3,0% [1–3]. Однако выполнение ревизионных операций повышает данный показатель до 2,6–4,8%, а в случае, если ревизию выполняют по поводу инфекционного процесса, то достичь купирования инфекционного процесса не удается у 23,2–33% пациентов [4, 5]. Хронизация инфекции, развитие остеомиелита, неоднократные saniрующие операции неизменно приводят к формированию обширных дефектов костной ткани.

Общепринятым стандартом лечения ортопедической инфекции при наличии костных дефектов в настоящее время является двухэтапное хирургическое лечение, при котором на первом этапе после санации гнойного очага устанавливают спейсер

из костного цемента (КЦ) на основе полиметилметакрилата (ПММА), содержащий антибиотик (АБ) для купирования инфекционного процесса [6]. Эффективность локального использования АБ в составе КЦ при замещении костных дефектов у пациентов с остеомиелитами и инфекциями, ассоциированными с ортопедическими имплантатами, считается общепризнанной [7].

К настоящему времени накоплены данные о возможности применения для локальной антимикробной терапии в составе КЦ широкого перечня других термостабильных АБ: цефазолина, цефуросима, цефтазидима, цефотаксима, цефтаролина, ципрофлоксацина, клиндамицина, эритромицина, колистина, пиперациллина/тазобактама, азтреонама, тазобактама, линезолида, меропенема, даптомицина, амфотерицина и вориконазола в зависимости от результатов бактериологического исследования

дооперационного аспирата [8]. Таким образом, рациональным выбор АБ для комплексного лечения может быть только при выделении возбудителя инфекции в дооперационном периоде. В реальной клинической практике исследование аспирата часто бывает неинформативным: нет роста или не удается выделить всех возбудителей. Следовательно, при отсутствии предварительных результатов бактериологического исследования локальная и системная антибактериальные терапии должны быть эмпирическими, то есть активными в отношении большинства ведущих возбудителей ортопедической инфекции. Чаще всего в мире в состав КЦ вводят аминогликозиды (гентамицин или тобрамицин) и ванкомицин, как правило, в комбинации, чтобы перекрыть широкий спектр возможных возбудителей.

Применяя АБ в составе КЦ, надо учитывать, что высвобождение малого количества антибактериального препарата не позволяет достичь его эффективных концентраций в зоне оперативного вмешательства, что не препятствует формированию микробных биопленок на цементном спейсере [9] и может приводить к селекции резистентных штаммов микроорганизмов. Известно, что на элюцию АБ из спейсера существенно влияют вязкость и пористость КЦ [10]. Кроме того, некоторые авторы полагают, что добавление дополнительного АБ к готовому антибиотикосодержащему цементу повышает выход препаратов из спейсера [11, 12]. Предлагаются различные способы, позволяющие увеличить площадь поверхности цементного спейсера, за счет чего, предположительно, может увеличиться элюция АБ [13].

В ситуации нарастающей резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам все большее значение приобретает поиск новых путей применения хорошо известных АБ. Фосфомицин — гидрофильный термостабильный АБ 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, он сохранил высокую антимикробную активность против проблемных патогенов, включая метициллинорезистентные штаммы *Staphylococcus* spp. [14] и грамотрицательные бактерии, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра [15]. 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 инфекций костей и суставов,

а также способностью воздействовать на микробные биопленки [16].

Целью настоящего исследования является *in vitro* оценка возможности применения фосфомицина для локальной терапии ППИ в составе КЦ на основе ПММА.

Материал и методы

Бактериологические исследования. Спектр ведущих возбудителей ППИ определен ретроспективно на основе результатов бактериологического исследования аспиратов, тканевых биоптатов и удаленных ортопедических конструкций пациентов, проходивших лечение в РНИИТО им. Р.Р. Вредена в 2013–2014 гг. Эпидемиологический анализ выполняли с применением программы «Система микробиологического мониторинга «Микроб-2»» (© 1999–2013 МедПроект-3).

В ходе работы ретроспективно при помощи данной системы была проанализирована чувствительность 358 клинических изолятов *S. aureus* (78 MRSA и 280 MSSA) к ванкомицину, гентамицину и фосфомицину. Чувствительность штаммов *S. aureus* к гентамицину и фосфомицину определяли *диск-диффузионным методом* (ДДМ) и использованием дисков (Oxoid, Великобритания). Оценку результатов определения чувствительности к гентамицину проводили согласно Российским клиническим рекомендациям [17] и рекомендациям Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) [18], к фосфомицину — согласно критериям Британского общества по антимикробной химиотерапии (BSAC) [19]. Чувствительность штаммов *S. aureus* к ванкомицину определяли при помощи E-тестов (Oxoid, Великобритания) [17, 18].

Определение антибиотикочувствительности штаммов *E. coli* ($n=19$), выделенных за указанный период времени и хранящихся в музее лаборатории микробиологии РНИИТО им.Р.Р. Вредена, проводили после размораживания штаммов. Чувствительность штаммов к гентамицину определяли ДДМ согласно Российским клиническим рекомендациям и международным стандартам EUCAST [17, 18]. Чувствительность штаммов *E. coli* к фосфомицину определяли методом последовательных разведений в агаре Мюллера–Хинтон, содержащем 25 мкг/мл глюкозо-6-фосфата, с оценкой пограничных значений *минимальных подавляющих концентраций* (МПК), установленных EUCAST [17, 20, 21].

Для статистического анализа полученных данных был использован Z-критерий стандартного нормального распределения для оценки разно-

Таблица 1. Количество дополнительного АБ на 20 г КЦ, г (%*)

№ группы	Ванкомицин	Фосфомицин
Контроль	–	–
1-я	1 (5)	–
2-я	2 (10)	–
3-я	–	2 (10)
4-я	–	4 (20)

Примечание. * — здесь и далее — доля АБ относительно массы КЦ, вес/вес.

сти между долями для равновеликих выборок. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Все изученные штаммы были выделены в 2013–2014 гг. в стационаре РНИИТО им. Р.Р. Вредена.

Получение образцов КЦ. Контрольные образцы готовили из КЦ DEPUY CMW 1 GENTAMICIN, содержащего 4,22% гентамицина, без внесения дополнительного АБ. Для получения опытных образцов в асептических условиях 20 г сухого вещества смешивали с соответствующим количеством дополнительного АБ (табл. 1). Далее полученную сухую смесь перемешивали с необходимым количеством мономера и формировали образцы необходимой формы. Для определения антимикробной активности готовили пластины размером $2 \times 15 \times 10$ мм. Для определения механических характеристик образцов при изгибе формировали пластины размером $2,8 \times 6 \times 40$ мм, при сжатии — цилиндры диаметром 9,7 мм и высотой 20 мм.

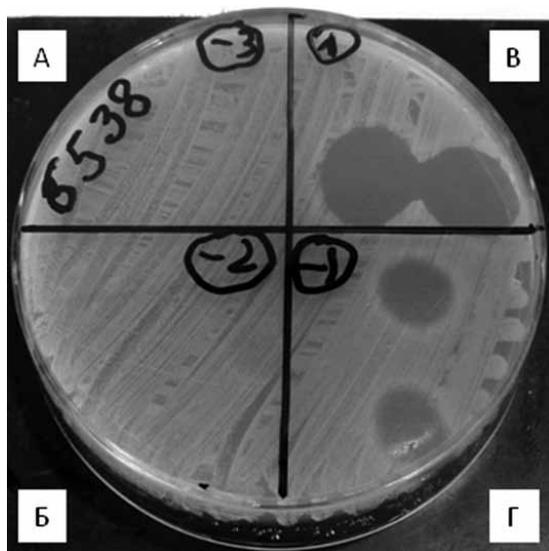


Рис. 1. Интерпретация результатов с учетом зон лизиса. А, Б — отрицательные результаты (-); В, Г — положительные результаты (+)

В каждую группу входило по пять образцов КЦ, существенно не различающихся по массе.

Оценка антимикробной активности образцов. 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 Мюллера–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 каждого суток инкубации 10 мкл раствора наносили в дубликатах на газон бактериальной культуры в чашках Петри и далее инкубировали 18 ч 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. 1).

Оценка механических свойств. Оценивали способность остеозамещающего материала противостоять нагрузкам и действию внешних сил, которую согласно ГОСТу по контролю свойств акрилцементов определяли следующими характеристиками: прочностью при изгибе и сжатии — в мегапаскалях (МПа) и модулем упругости при изгибе — в МПа [22].

Исследование прочностных свойств образцов проводили в лаборатории полимеров и композитов ИВС РАН (Санкт-Петербург) на разрывной маши-

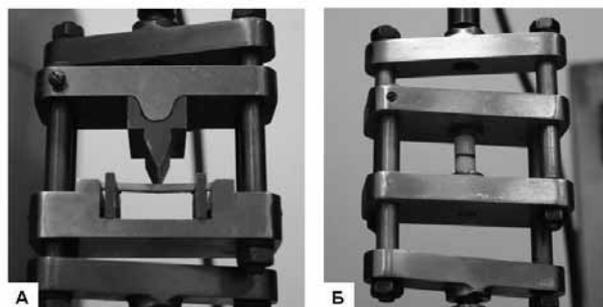


Рис. 2. Измерение прочностных характеристик исследуемых образцов. А — метод трехточечного изгиба, Б — прочность при сжатии

не 1958У-10-1 (Россия) при 20 °С. Прочность при изгибе образцов в виде пластин определяли методом трехточечного изгиба с расстоянием между опорами 30 мм, скорость нагружения образцов составляла 0,5 мм/мин (рис. 2, А). Скорость нагружения цилиндрических образцов при определении их прочности при сжатии (рис. 2, Б) составляла 10 мм/мин. Модуль упругости при изгибе был измерен с помощью метода динамического механического анализа на установке DMA 242 С фирмы NETZSCH (Германия) при трехточечном изгибе плоского образца при частоте 1 Гц и 20 °С. Результаты представляли в виде средних значений (M_{cp}) с доверительными интервалами (ДИ 95%).

Статистическую обработку проводили с помощью программы GraphPad Prism 6.0 (США). Различия между группами оценивали непараметрическими методами с помощью критерия Краскела–Уоллиса с последующим тестом множественных сравнений Дана. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Мониторинг основных возбудителей перипротезной инфекции и их чувствительность к ванкомицину, фосфомицину и гентамицину. Согласно данным мониторинга возбудителей ППИ в РНИИТО им. Р.Р. Вредена за 2013–2014 гг. ведущими патогенами были представители двух семейств: *Staphylococcaceae* (57,6%) и *Enterobacteriaceae* (10,1%). Среди стафилококков 59,3% штаммов составили *S. aureus*, из которых 21,8% были MRSA. Среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* значимую роль играли *K. pneumoniae* (36,1%) и *E. coli* (12,1%).

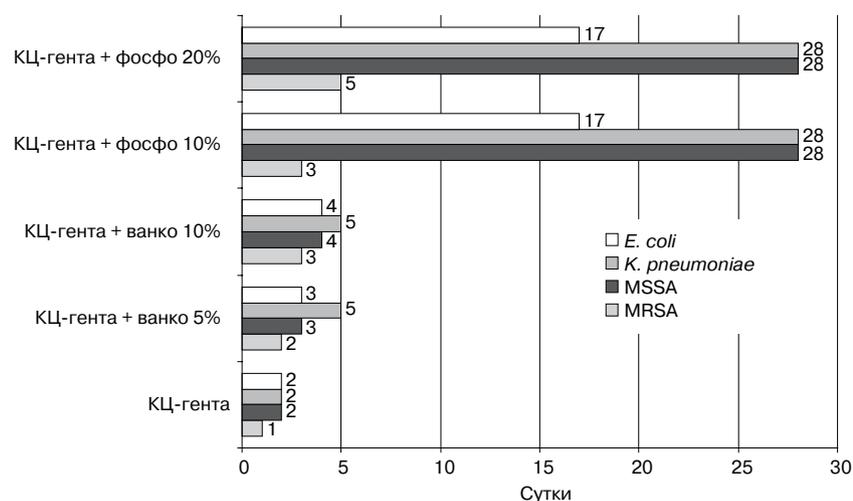


Рис. 3. Продолжительность антимикробного действия образцов КЦ-гента с добавлением ванкомицина (ванко) или фосфомицина (фосфо) в различных концентрациях.

Анализ имеющихся за указанный период данных по чувствительности штаммов *S. aureus* ($n=358$) к АБ показал, что все, включенные в исследование изоляты *S. aureus*, были чувствительны к ванкомицину ($MPK \leq 2$ мг/л). К фосфомицину были чувствительны 100% штаммов MSSA и 88,5% штаммов MRSA, к гентамицину — 96,8% штаммов MSSA и 21,9% MRSA.

В ходе работы была проанализирована чувствительность 19 штаммов *E. coli* к гентамицину и фосфомицину. Согласно полученным данным, гентамицин был активен в отношении 63,2%, а фосфомицин — в отношении 100% изолятов *E. coli* ($MPK \leq 32$ мг/л).

Полученные нами данные по чувствительности к фосфомицину штаммов *S. aureus* и *E. coli*, а также результаты других исследователей по чувствительности *E. coli* и *K. pneumoniae* [23] свидетельствуют о высокой активности данного АБ в отношении широкого спектра возбудителей, что позволяет сделать предварительный вывод о возможности дальнейшего исследования фосфомицина как альтернативы ванкомицину для дополнительной импрегнации гентамициносодержащего КЦ на основе ПММА.

Продолжительность антимикробной активности. Наименьшая продолжительность антимикробной активности установлена у контрольных образцов *гентамициносодержащего костного цемента* (КЦ-гента) без добавления дополнительного АБ: двое суток в отношении MSSA и грамотрицательных бактерий (*E. coli* и *K. pneumoniae*), одни сутки в отношении MRSA. Образцы, дополнительно содержащие 5% ванкомицина, проявляли антимикробную активность в отношении штаммов MRSA

и *E. coli* в течение двух суток, в отношении штаммов MSSA и *K. pneumoniae* — в течение трех и пяти суток соответственно. Увеличение концентрации ванкомицина в 2 раза (10%) приводило к продлению антимикробной активности тестируемых образцов еще на одни 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 то же время

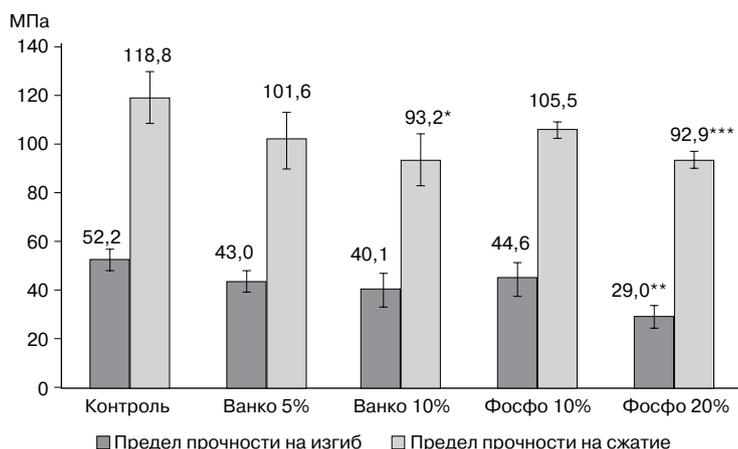


Рис. 4. Результаты измерения прочности при изгибе и сжатии тестируемых образцов КЦ (M_{cp} , ДИ 95%)

* — отличается от контроля при $p < 0,05$, ** — отличается от контроля при $p < 0,01$, *** — отличается от контроля при $p < 0,001$.

в отношении MRSA данные образцы были активны только в течение 3 (10%) и 5 (20%) суток (рис. 3).

Оценка механических свойств костного цемента при импрегнации антибиотиками. Предел прочности образцов снижался при добавлении в КЦ дополнительных АБ вне зависимости от их природы и количества (рис. 4). Для образцов, содержащих 5 и 10% ванкомицина, снижение прочности при изгибе в сравнении с контрольными образцами составило 17,3% ($p > 0,05$) и 20,8% ($p > 0,05$) соответственно. Для образцов, содержащих 10 и 20% фосфомицина — 11,5% ($p > 0,05$) и 42,7% ($p < 0,001$) соответственно. Снижение прочности при сжатии для образцов, содержащих 5 и 10% ванкомицина, в сравнении с контролем составило 18,2% ($p > 0,05$) и 23,5% ($p < 0,05$) соответственно, а для образцов, содержащих 10 и 20% фосфомицина — 14,4% ($p > 0,05$) 24,4% ($p < 0,01$) соответственно.

Модуль упругости E' при изгибе тестируемых образцов КЦ с дополнительными АБ существенно отличался от контроля, независимо от природы и количества добавленного АБ (табл. 2).

Обсуждение результатов

До настоящего времени в составе КЦ при лечении ППИ чаще всего применяют аминогликозиды (гентамицин или тобрамицин) в сочетании с ванкомицином в связи с синергетическим эффектом [24]. Однако ванкомицин характеризуется узким спектром действия, включающим только грамположительные возбудители, а обладающий широким спектром активности гентамицин в современных условиях из-за возрастающей к нему резистентности практически утратил свое значение в лечении имплантат-ассоциированных инфекций, обусловленных метициллинорезистентными стафилококками и клебсиеллой. Ранее нами было показано, что гентамицин проявлял активность только в отношении 32,6 и 11,4% изолятов MRSE и MRSA соответственно, а также и 42,3% штаммов энтеробактерий [25]. В данном исследовании установлено, что чувствительность штаммов MRSA к гентамицину составила только 21,9%, что было значительно ниже чувствительности к фосфомицину — 88,5% ($p < 0,05$). Кроме того, последний, по нашим данным, был активен в отношении 100% изолятов *E. coli*, что согласуется с результатами других исследователей о чувствительности к фосфомицину 100% штаммов *E. coli* и 82,2% штаммов *K. pneumoniae* [23], в то время как аналогичные показатели для гентамицина составили 15,4 и 62,1% соответственно. Таким образом, полученные результаты соответствуют данным научных публикаций о низкой резистентности к фосфомицину стафилококков, энтеробактерий, в том числе и *E. coli*, вызывающей инфекции костей и суставов [15, 23, 26]. Кроме того, известно, что результатом комбинации фосфомицина с гентамицином является синергидный или аддитивный эффекты в отношении *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* [27].

В. Marsi и соавт. (1997) показали, что максимальное количество АБ высвобождается из спей-

Таблица 2. Результаты измерения модуля упругости при изгибе

Образцы	M_{cp} , МПа	Ср. кв. откл.	ДИ 95%	p
Контроль	1590	60	1515–1665	
Ванкомицин 5%	1271	33	1230–1312	>0,05
Ванкомицин 10%	1326	22	1292–1360	>0,05
Фосфомицин 10%	1625	50	1545–1705	>0,05
Фосфомицин 20%	1028	25	989–1067	<0,01

сера в течение первых 24–72 часов после операции [28]. По мнению других авторов, при установке стандартизированных антимикробных спейсеров, импрегнированных гентамицином и ванкомицином, снижения концентраций АБ до субтерапевтических можно ожидать на 17-й послеоперационный день для ванкомицина и 14-й — для гентамицина [29]. Комбинация АБ в спейсере может влиять на высвобождение каждого препарата в отдельности. При растворении одного АБ увеличивается пористость и изменяется поверхность спейсера, что увеличивает элюирование другого антимикробного препарата. Использование комбинации гентамицин+ванкомицин требует более высокой доли последнего, что обусловлено его худшим высвобождением. В исследовании J. Kelm и соавт. (2006), несмотря на четырехкратное превышение исходной концентрации ванкомицина в КЦ в сравнении с гентамицином, относительная доля выхода ванкомицина была значимо ниже [30].

Полученные в нашем исследовании результаты свидетельствуют о том, что в модели *in vitro* длительность антимикробного действия КЦ, исходно содержащего 4,22% гентамицина, была крайне непродолжительной: двое суток в отношении MSSA, *K. pneumoniae* и *E. coli*, одни сутки в отношении MRSA. Добавление 5% ванкомицина к гентамициносодержащему цементу продлило антимикробную активность образцов на одни сутки в отношении MSSA, MRSA и на двое суток в отношении *K. pneumoniae*. Продолжительность действия на *E. coli* не изменилась. Двукратное увеличение содержания ванкомицина также не позволило значительно продлить длительность антимикробного действия тестируемых образцов (см. рис. 3). Добавление фосфомицина при замешивании КЦ позволило увеличить длительность антимикробной активности в отношении MSSA и *K. pneumoniae* до четырех недель и *E. coli* — до 17 суток. При этом продолжи-

тельность действия не зависела от концентрации фосфомицина в КЦ. В отношении MRSA увеличение содержания АБ с 10 до 20% показало продление активности с 3 до 5 суток соответственно.

Продолжительность антимикробного действия зависит от выхода АБ из КЦ, что, по нашему мнению, может напрямую зависеть от размера и структуры молекулы АБ. На рис. 5 показаны структурные формулы исследуемых АБ, среди которых наименьший размер имеет молекула фосфомицина.

Некоторое увеличение продолжительности действия на грамотрицательные возбудители при добавлении 10% ванкомицина, по-видимому, обусловлено увеличением элюции гентамицина при изменении структуры цемента при добавлении большего количества дополнительного АБ, что подтверждается установленным снижением прочности при изгибе и сжатии в сравнении с образцами, содержащими 5% данного АБ (см. рис. 4). Согласно межгосударственному стандарту ГОСТ ISO 5833–2011 акрилцементы должны соответствовать ряду требований по остаточной деформации и полимеризации: прочности при изгибе (не менее 50 МПа), модулю упругости при изгибе (не менее 1800 МПа) и прочности при сжатии (не менее 70 МПа). Сравнивая данные, полученные в результате испытания образцов, со значениями ГОСТ, можно сказать о том, что контрольные образцы КЦ удовлетворяют требованиям стандарта (см. рис. 4) в отношении средних значений прочности при изгибе — 52,2 МПа (ДИ 95%, 47,7–56,7) и прочности при сжатии — 118,8 МПа (ДИ 95%, 108,7–128,9), однако модуль упругости при изгибе составил 1590 МПа (ДИ 95%, 1515–1665), что ниже рекомендованного в ГОСТе. Пределы прочности образцов с дополнительными антибактериальными препаратами в составе не соответствовали значениям стандарта по прочности при изгибе и составили для образцов с 5 и 10% ванкомицина — 43 (ДИ 95%, 39,1–46,9)



Рис. 5. Химическая структура и молекулярная масса исследуемых антибиотиков.

и 40,1 МПа (ДИ 95%, 32,9–47,3) соответственно; с 10 и 20% фосфомицина – 44,6 (ДИ 95%, 37,5–51,8) и 29 МПа (ДИ 95%, 24,5–33,6) соответственно. Несмотря на достоверное снижение прочности при сжатии образцов, содержащих 10% ванкомицина ($p < 0,05$) и 20% фосфомицина ($p < 0,01$), в сравнении с контролем, все образцы с дополнительными АБ продемонстрировали соответствие стандарту по данному показателю. Модуль упругости при изгибе всех исследованных образцов, включая контрольные, был ниже рекомендованного стандартом, однако среди всех тестируемых образцов максимальное значение данного показателя – 1620 МПа (ДИ 95%, 1545–1705) было получено для КЦ с 10% фосфомицина. Двойное увеличение дозы фосфомицина привело к значительному снижению ($p < 0,01$) модуля упругости в сравнении с контрольными образцами (см. табл. 2).

Полученные данные свидетельствуют, что прочностные свойства КЦ зависят не только от концентрации, но и от природы добавляемого АБ. Так, образцы с 10% фосфомицина продемонстрировали наибольшую продолжительность антимикробного

действия в отношении протестированных возбудителей, при меньших изменениях прочностных свойств цемента, в сравнении с образцами, содержащими аналогичную концентрацию ванкомицина. Увеличение доли фосфомицина до 20% не позволило значимо увеличить продолжительность антимикробного действия при существенном снижении прочностных свойств КЦ, что делает данную концентрацию бесперспективной для дальнейших исследований.

В результате проведенного исследования установлено, что фосфомицин характеризуется высокой активностью в отношении ведущих возбудителей ППИ, а добавление данного АБ в гентамицинодержущий КЦ существенно увеличивает продолжительность его антимикробного действия в сравнении с ванкомицином в отношении большинства протестированных микроорганизмов. Таким образом, представляется перспективным применение гентамицинодержущего КЦ с добавлением 10% фосфомицина для формирования спейсеров при лечении ППИ.

Литература

1. Barrett L., Atkins B. The clinical presentation of prosthetic joint infection. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69(1):25-7.
2. Bauer T.W., Parvizi J., Kobayashi N., Krebs V. Diagnosis of periprosthetic infection. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88(4):869-82.
3. Phillips J.E., Crane T.P., Noy M., et al. The incidence of deep prosthetic infections in a specialist orthopaedic hospital: a 15-year prospective survey. *J Bone Joint Surg Br* 2006; 88:943-8.
4. Jafari S.M., Coyle C., Mortazavi S.M., Sharkey P.F., Parvizi J. Revision hip arthroplasty: infection is the most common cause of failure. *Clin Orthop Relat Res* 2010; 468(8):2046-51.
5. Lie S.A., Engesaeter L.B., Havelin L.I., Gjessing H.K., Vollset S.E. Dependency issues in survival analyses of 55,782 primary hip replacements from 47,355 patients. *Stat Med* 2004; (23):3227-40.
6. Божкова С.А., Новокшенова А.А., Конев В.А. Современные возможности локальной антибиотикотерапии перипротезной инфекции и остеомиелита (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России* 2015; 3(77):92-107.
7. Langlais F. Can we improve the results of revision arthroplasty for infected total hip replacement? *J Bone Joint Surg Br* 2003; 85:637-40.
8. Тихилов Р.М. Материалы международной согласительной конференции по перипротезной инфекции. СПб; 2013. 355 с.
9. Tunney M.M., Dunne N., Einarsson G., et al. Biofilm formation by bacteria isolated from retrieved failed prosthetic hip implants in an *in vitro* model of hip arthroplasty antibiotic prophylaxis. *J Orthopaedic Research* 2007; 25(1):2-10.
10. Meyer J, Piller G, Spiegel CA, Hetzel S, Squire M. Vacuum-mixing significantly changes antibiotic elution characteristics of commercially available antibiotic-impregnated bone cements. *J Bone Joint Surg Am* 2011; 93(22):2049-56.
11. Ensing G.T., van Horn J.R., van der Mei H.C., Busscher H.J., Neut D. Copal bone cement is more effective in preventing biofilm formation than palacos R-G. *Clin Orthop Relat Res* 2008; 466:1492-8.
12. Zilberman M., Elsner J.J. Antibiotic-eluting medical devices for various applications. *J Controlled Release* 2008; (130):202-5.
13. Кильметов Т.А., Ахтямов И.Ф., Гильмутдинов И.Ш., и соавт. Локальная антибиотикотерапия при инфекции области эндопротеза сустава. *Казанский медицинский журнал* 2014; 3(95):406-10.
14. Falagas M.E., Roussos N., Gkegkes I.G., Rafailidis P.I., Karageorgopoulos D.E. Fosfomycin for the treatment of infections caused by Gram-positive cocci with advanced antimicrobial drug resistance: a review of microbiological, animal and clinical studies. *Expert Opin Investig Drugs* 2009; 18:921-44.
15. Falagas M.E., Kanellopoulou M.D., Karageorgopoulos D.E., et al. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant Gram-negative bacteria to fosfomycin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; 27:439-43.

16. Michalopoulos A.S., Livaditis I.G., Gougoutas V. The revival of fosfomycin. *IJID* 2011; 15:732-9.
17. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Клинические рекомендации. Версия-2015-02. Доступно по ссылке: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015-project.pdf>
18. EUCAST Clinical Breakpoint Table v. 5.0 (2015). Available at URL: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_5.0_Breakpoint_Table_01.pdf
19. Standing Committee on Susceptibility Testing. British Society for Antimicrobial Chemotherapy. Version 14.0, 05-01-2015. Available at URL: <http://bsac.org.uk/wp-content/uploads/2012/02/BSAC-Susceptibility-testing-version-14.pdf>
20. Wiegand I., Hilpert K., Hancock R.E. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc* 2008; 3(2):163-75.
21. Andrews J.M. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48(S1):5-16
22. Имплантаты для хирургии. Акрилцементы. ГОСТ ISO 5833-201. М.: Стандартинфо; 2013. 15 с.
23. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. и исследовательская группа «МАРАФОН» - Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011-2012 гг. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2014; 16(4):254-65.
24. Duffy R.K., Shafritz A.B. Bone Cement. *J Hand Surg Am* 2011; 36(6):1086-8.
25. Божкова С.А., Тихилов Р.М., Краснова М.В., Рукина А.Н. Ортопедическая имплантат-ассоциированная инфекция: ведущие возбудители, локальная резистентность и рекомендации по антибактериальной терапии. *Травматология и ортопедия России* 2013; 4(75):5-15.
26. Sahuquillo-Arce J.M., Selva M., Perpiñán H., et al. Antimicrobial resistance in more than 100,000 *Escherichia coli* isolates according to culture site and patient age, gender, and location. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(3):1222-8.
27. Gobernado M., Fosfomicina. *Rev Esp Quimioterap* 2003; 16(1):15-40.
28. Masri B.A., Duncan C.P., Beauchamp C.P., Engh G.A., Rorabeck C.H. The modified two staged exchange arthroplasty in the treatment of infected total knee replacement: the prostalac system and other articulated spacers. *Revision Total Knee Arthroplasty* 1997; (13):394-424.
29. Minelli E., Benini A., Magnan B., Bartolozzi P. Release of gentamicin and vancomycin from temporary human hip spacers in two-stage revision of infected arthroplasty. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53(2):329-34.
30. Kelm J., Regitz T., Schmitt E., Jung W., Anagnostakos K. *In vivo* and *in vitro* studies of antibiotic release from and bacterial growth inhibition by antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate hip spacers. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(1):332-5.