

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ INFECTIOUS DISEASES

БЛИЖАЙШИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ СТАФИЛОКОККОВОЙ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ АНТИБИОТИКАМИ И БАКТЕРИОФАГАМИ

Фёдоров Е.А.¹,
Кретьен С.О.¹,
Самохин А.Г.¹,
Тикунова Н.В.²,
Корыткин А.А.¹,
Павлов В.В.¹

¹ ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России (630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17, Россия)

² ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Фёдоров Евгений Александрович,
evgeniifedorov1987@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Частота инфекционных осложнений после первичной имплантации эндопротеза тазобедренного сустава составляет 0,5–3 %, а в случае ревэндопротезирования риск перипротезной инфекции может достигать 30 %. Также не стоит забывать о высоком проценте (16–20 %) рецидива перипротезной инфекции тазобедренного сустава, который приводит к неудовлетворительному результату лечения вплоть до ампутации конечности или даже смерти пациента. Причинами рецидива инфекционного процесса могут послужить антибиотикорезистентность и антибиотикотолерантность микроорганизмов, а также способность микроорганизмов образовывать на имплантатах биоплёнку. В этой связи существует постоянная потребность поиска альтернативных средств антимикробной терапии, а также выбора оптимальных путей их доставки и депонирования, что имеет прикладное значение при выполнении хирургических вмешательств в травматологии и ортопедии для защиты имплантируемой конструкции от возможной инфекции области хирургического вмешательства. В настоящее время существует эффективный метод борьбы с бактериальными инфекциями, с приобретённой антибиотикорезистентностью и антибиотикотолерантностью, который заключается в применении естественных вирусов, инфицирующих бактерии, – бактериофагов. Вышесказанное позволяет предполагать более эффективное подавление перипротезной инфекции, включая бактериальные клетки-персистеры, отклоняющиеся от действия антибиотиков и, как правило, ассоциированные с биоплёнками. При совместном использовании антибиотиков и фагов применение бактериофагов предопределяет эффективность лечения. В случае использования подобранных по чувствительности бактериофагов при лечении перипротезной инфекции отмечено статистически значимое ($p = 0,030$) существенное уменьшение частоты рецидивов инфекции (с 31 до 4,5 %). Использование литических бактериофагов в травматологии и ортопедии представляет большой интерес, так как бактериофаги способны лизировать антибиотикорезистентные штаммы бактерий, а также бактерии, которые находятся в биоплёнке. Клиническое исследование с применением одноэтапной ревизии и одновременного применения антибиотиков и фагов при лечении глубокой перипротезной инфекции эндопротеза тазобедренного сустава с последующим наблюдением за исходом лечения данной инфекции в течение 12 месяцев продемонстрировало высокую эффективность применения бактериофагов.

Ключевые слова: стафилококк, бактериофаг, перипротезная инфекция, эндопротез, тазобедренный сустав

Для цитирования: Фёдоров Е.А., Кретьен С.О., Самохин А.Г., Тикунова Н.В., Корыткин А.А., Павлов В.В. Ближайшие результаты лечения стафилококковой перипротезной инфекции тазобедренного сустава с использованием комбинированной терапии антибиотиками и бактериофагами. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 50-63. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.5

Статья поступила: 25.03.2021

Статья принята: 06.08.2021

Статья опубликована: 12.10.2021

SHORT-TERM RESULTS OF TREATMENT OF STAPHYLOCOCCAL PERIPROSTHETIC HIP JOINT INFECTION WITH COMBINED ANTIBIOTICS AND BACTERIOPHAGES TREATMENT

Fedorov E.A.¹,
Kretien S.O.¹,
Samokhin A.G.¹,
Tikunova N.V.²,
Korytkin A.A.¹,
Pavlov V.V.¹

¹ Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics (Frunze str. 17, Novosibirsk 630091, Russian Federation)

² Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Lavrentyeva av. 8, Novosibirsk 630090, Russian Federation)

Corresponding author:

Evgeny A. Fedorov,

e-mail: evgeniifedorov1987@mail.ru

ABSTRACT

Infectious complications after primary implantation of the hip joint are 0.5–3 %, and in the case of re-endoprosthetics, the risk of periprosthetic infection can reach 30 %. Also, we should not forget about the high percentage (16–20 %) of recurrence of periprosthetic infection of the hip joint, which leads to an unsatisfactory result of treatment up to amputation of a limb or even death of the patient. The reasons for the recurrence of the infectious process can be antibiotic resistance and antibiotic tolerance of microorganisms, as well as the ability of microorganisms to form biofilms on implants. In this regard, there is a constant need to search for alternative means of antimicrobial therapy, as well as to select the optimal ways of their delivery and deposition, which is of practical importance when performing surgical interventions in traumatology and orthopedics to protect the implantable structure from possible infection of the surgical site. One of the methods currently available to combat bacterial infections acquired antibiotic resistance and antibiotic tolerance is the use of natural viruses that infect bacterial bacteriophages. The above suggests a more effective suppression of periprosthetic infection, including persisters that deviate from antibiotics. It is, as a rule, associated with biofilms if used in conjunction with antibiotics and phages, when the use of bacteriophages predetermines the effectiveness of treatment. With the use of sensitive bacteriophages in the treatment of periprosthetic infections, a significant ($p = 0.030$) reduction in the rate of recurrence of infection (from 31 to 4.5 %) was observed. The use of lytic bacteriophages in traumatology and orthopedics is of great interest for phagotherapy of infections caused by antibiotic-resistant and biofilm-forming strains of bacteria. A clinical study using a single-stage surgical revision with simultaneous application of antibiotics and phages in the treatment of deep periprosthetic infection of the hip joint endoprosthesis, followed by 12 months follow-up for periprosthetic infection recurrence, demonstrated the effectiveness of the use of combined antibiotic and bacteriophages treatment.

Key words: staphylococcus, bacteriophage, periprosthetic infection, endoprosthesis, hip joint

For citation: Fedorov E.A., Kretien S.O., Samokhin A.G., Tikunova N.V., Korytkin A.A., Pavlov V.V. Short-term results of treatment of staphylococcal periprosthetic hip joint infection with combined antibiotics and bacteriophages treatment. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 50-63. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.5

Received: 25.03.2021

Accepted: 06.08.2021

Published: 12.10.2021

ВВЕДЕНИЕ

По данным мировой литературы [1, 2], частота инфекционных осложнений после первичной имплантации эндопротеза тазобедренного сустава составляет от 0,5 до 3 %, а в случае реэндопротезирования риск инфицирования возрастает до 30 % [3]. Также стоит отметить высокий процент рецидивов глубокой перипротезной инфекции тазобедренного сустава (16–20 %) [4, 5], что в случае генерализации процесса может привести к ампутации конечности или смерти пациента [6, 7].

На сегодняшний день различают консервативное и оперативное лечение, проводимое в сочетании с курсами антибактериальной терапии. На выбор того или иного метода лечения влияют время манифестации инфекции, стабильность имплантата, а также чувствительность микроорганизмов к антибактериальным препаратам и наличие сопутствующих заболеваний [4, 8, 9]. В настоящее время существует метод борьбы с бактериальными инфекциями, лишённый некоторых недостатков, характерных для применения антибиотиков (АБ), который заключается в применении естественных вирусов, инфицирующих бактерии, – бактериофагов [10]. Рост числа бактерий с множественной лекарственной устойчивостью привёл к повышенному интересу к фаговой терапии, которая исторически предшествовала лечению антибиотиками против бактериальных инфекций. На сегодняшний день сообщений о серьёзных нежелательных явлениях, вызванных фагами, не поступало, кроме естественной резистентности бактерий к конкретным фагам.

Сообщения об эффективном клиническом применении бактериофагов при инфекционных заболеваниях, где антибиотики оказались бессильны, включая супрессивную антибактериальную терапию, показали многообещающие результаты [11]. Именно поэтому использование литических бактериофагов в травматологии и ортопедии представляет большой интерес – в связи с тем, что бактериофаги способны лизировать антибиотикорезистентные штаммы бактерий, а также бактерии, которые находятся в биоплёнке.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Предоставить ближайшие результаты лечения глубокой стафилококковой перипротезной инфекции тазобедренного сустава с использованием бактериофагов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования: нерандомизированное, проспективное, открытое, сравнительное исследование в двух параллельных группах с историческим контролем. Исследование проводилось путём сравнения эффективности двух различных вариантов одноэтапного лечения глубокой перипротезной инфекции (ППИ) тазобедренного сустава: с применением этиотропной си-

стемной и локальной антибиотикотерапии (группа сравнения) и с применением комбинации системной антибиотикотерапии и локальной фаготерапии (группа исследования). Перед операцией в группе исследования предварительно определяли чувствительность стафилококкового бактериофага НПО «Микроген» (Россия) к выделенному от пациента стафилококку.

Объекты исследования

В группу сравнения ($n = 28$) вошли пациенты, которым было проведено одноэтапное реэндопротезирование тазобедренного сустава с установкой эндопротеза цементной фиксации и с применением этиотропной системной и локальной антибиотикотерапии. Средний возраст пациентов в группе сравнения составил $56,9 \pm 12,2$ года.

В группу исследования ($n = 23$) вошли пациенты, которым было проведено одноэтапное реэндопротезирование тазобедренного сустава с имплантацией эндопротеза цементной фиксации и с применением комбинированной этиотропной системной антибиотикотерапии и локальной фаготерапии при условии предварительно подобранного по антибактериальной активности по отношению к стафилококку бактериофага. Средний возраст пациентов в группе исследования составил $56,0 \pm 14,9$ года.

При определении случая в исследовании мы опирались на основные критерии перипротезной инфекции, разработанные Обществом инфекций костно-суставной системы (MSIS, Musculoskeletal Infection Society) в 2011 г., такие как наличие свища, сообщающегося с протезом, и фенотипически идентичный патоген, в нашем случае выделенный путём посева из двух или более отдельных образцов ткани (биоптатов), полученных из перипротезной ткани.

В группе сравнения интраоперационно в костный цемент на этапе ручного смешивания без вакуума добавляли антибиотик согласно чувствительности (2,0 г ванкомицина на 40,0 г сухого вещества полиметилметакрилата).

В группе исследования при смешивании компонентов полиметилметакрилата без вакуума добавляли раствор коммерческого стафилококкового бактериофага производства АО НПО «Микроген» (Россия) – 6 мл на 40,0 г сухого вещества полиметилметакрилата.

Экспериментальным обоснованием для подобного применения бактериофагов послужила ранее показанная нами в условиях *in vitro* возможность депонирования фаговых частиц в кавернах на поверхности приготавливаемых *ex tempore* имплантатов из полиметилметакрилата [12].

Критерии включения пациентов в исследование:

- 1) возраст от 18 до 85 лет;
- 2) подтверждённая глубокая ранняя, поздняя или гематогенная ППИ при наличии основных критериев перипротезной инфекции (MSIS, 2011);
- 3) анатомические костные дефекты проксимального отдела бедренной кости типа I или II по W.G. Paprosky

(1994) и анатомические костные дефекты вертлужной впадины типа I, II или IIA по W.G. Paprosky (1994), что обуславливает наличие анатомических условий для проведения цементной имплантации протеза (возможность выполнения прессуризации);

4) возможность проведения планового оперативного вмешательства с применением методики одноэтапного лечения глубокой ППИ согласно клиническим рекомендациям 2013 и 2016 гг. [13, 14], включая этиотропную антибактериальную терапию до 12 недель;

5) чувствительность выделенных бактерий семейства Staphylococcaceae к бактериофагам с титром не менее 10^4 БОЕ/мл (бляшкообразующие единицы на миллилитр);

6) проведение бактериофаготерапии в течение 10 суток после операции.

Критерии исключения пациентов из исследования:

1) отсутствие основных критериев перипротезной инфекции (MSIS, 2011);

2) анатомические костные дефекты проксимального отдела бедренной кости типа IIIA, IIIB или IV по W.G. Paprosky (1994) и анатомические костные дефекты вертлужной впадины типа IIB, IIC, III, IIIA или IIIB по W.G. Paprosky (1994);

3) перипротезная инфекция нестафилококковой этиологии;

4) жизнеугрожающие состояния, требующие неотложных хирургических мероприятий;

5) отсутствие чувствительности выделенных бактерий семейства Staphylococcaceae к бактериофагам с титром менее 10^4 БОЕ/мл до операции и в послеоперационном периоде.

Для систематизации больных использовали классификацию D.T. Tsukayama и соавт. (1996) [15]. Манифестация перипротезной инфекции после эндопротезирования тазобедренного сустава у 13 (28 %) пациентов из обеих групп отмечена в течение 1 месяца (ранняя ППИ), у 27 (52 %) – в сроки от 1 месяца до 1 года после операции (поздняя ППИ), у 11 (20 %) – в срок более 1 года (гематогенная ППИ).

Детекция и идентификация возбудителя проводились культуральным бактериологическим методом. В качестве объекта исследования в работе были использованы пунктаты (в дооперационном периоде) и биоптаты из очага воспаления (во время открытой биопсии и основного этапа оперативного вмешательства), а также раневое отделяемое из дренажей (в послеоперационном периоде). У пациента производили забор биологического материала (пунктат, раневое отделяемое) объемом от 0,5 до 5,0 мл и помещали его во флакон «ВасТ/ALERT PF PLUS» с жидкой питательной средой, затем флакон загружали в бактериологический анализатор «ВасТ/ALERT 3D» и выращивали патогенные микроорганизмы до получения сигнала на бактериологическом анализаторе об их росте. Далее при помощи шприца или модуля для посева извлекали от 0,048 до 0,051 мл содержимого и делали высеив каплями на специаль-

но подобранные питательные среды, например, кровяной агар (Blood Agar Base), агар Сабуро и «шоколадный» агар (агар с гретой кровью), в чашках Петри. Капли растирали микробиологической петлей, используя метод истощающего штриха, для получения изолированных колоний. Питательные среды, например, кровяной агар (Blood Agar Base), агар Сабуро и «шоколадный» агар (агар с гретой кровью), с посевами инкубировали в термостате в течение 18–24 ч при температуре 35 ± 2 °C. Затем чашки Петри извлекали из термостата и просматривали под искусственным освещением на наличие видимого роста патогенных микроорганизмов. Далее проводили микроскопию патогенных микроорганизмов с помощью окраски по Граму, идентифицировали выросшие патогенные микроорганизмы на анализаторе «VITEK 2 COMPACT» (Biomerieux, Франция) или с помощью идентификационных карт «API strip» (Biomerieux, Франция).

Для определения концентрации (титра) бактериофагов использовали метод агаровых слоёв. Первоначально готовили десятикратные разведения анализируемого жидкого коммерческого препарата, содержащего стафилококковый бактериофаг. С этой целью готовили суспензию патогенных микроорганизмов в 0,85%-м растворе хлорида натрия плотностью от 0,3 до 0,6 у. е. стандарта мутности по McFarland. Пробу бактериофагов в объёме 0,1 мл соответствующего разведения смешивали с 0,1 мл суспензии патогенных микроорганизмов. Полученную суспензию вносили в 10 мл расплавленного до 42 °C 0,7%-го агара и после быстрого перемешивания выливали на поверхность питательной среды с агаром (например, 1,5%-м мясо-пептонным агаром или агаром Мюллера – Хинтона) либо любой другой, пригодной для культивирования микроорганизмов, среды в чашку Петри. После застывания верхнего слоя в течение 5–10 мин при температуре 21 – 23 °C чашку Петри переворачивали и инкубировали в термостате при 35 ± 2 °C в течение 16–18 ч. Для определения концентрации фаговых частиц в жидком коммерческом бактериофаге подсчитывали количество негативных колоний (прозрачные пятна на матовом фоне глубинного роста бактерий) на каждой чашке Петри. Количество фаговых частиц рассчитывали по формуле:

$$K = \frac{a \times 1000}{V} \times 10^n$$

где K – количество фаговых частиц в 1 мл препарата;

a – количество негативных колоний на чашке;

V – объём высеваемой пробы, на 1 мл;

10^n – порядковый номер разведения препарата, по которому производится расчёт фаговых частиц.

Результат интерпретировали следующим образом: достижение коммерческим бактериофагом концентрации (титра) не менее 10^6 БОЕ/мл свидетельствует об эффективном воздействии раствора коммерческого бактериофага на целевой патогенный штамм микроорганизма (-ов), что подтверждает терапевтическую эффективность.

Хирургическое лечение ППИ у пациентов обеих групп выполняли в один этап с установкой эндопротеза цементной фиксации.

В группе сравнения при имплантации каждого компонента смешивали антибиотик ванкомицин (согласно чувствительности) с костным цементом без вакуума с последующим проведением этиотропной системной антибактериальной терапии (даптомицин, ванкомицин, цефазолин, ципрофлоксацин); дренаж в послеоперационную рану устанавливался на одни сутки.

В группе исследования перед установкой компонентов эндопротеза при замешивании костного цемента без вакуума добавляли 6 мл раствора стафилококкового бактериофага. После завершения операции по оставленному дренажу в перипротезную область в течение 10 дней ежедневно вводили по 20 мл бактериофага производства НПО «Микроген» (Россия), согласно результатам проведённого до выполнения хирургического вмешательства определения чувствительности возбудителя к бактериофагу, с одновременным проведением этиотропной системной антибактериальной терапии (даптомицин, ванкомицин, цефазолин, ципрофлоксацин) в соответствии с клиническими рекомендациями по лечению перипротезной инфекции.

В группе сравнения дренаж удалялся на первые сутки после операции, а в группе исследования он оставлялся на период до 10 дней для проведения фаготерапии. В случае разгерметизации дренажная система удалялась, и стафилококковый бактериофаг вводился пункционно.

Для оценки эффективности проводимой фаготерапии на 4–5-е сутки послеоперационного периода у пациента производили забор из дренажной трубки раневого отделяемого в объёме от 5 до 10 мл, согласно разработанному и запатентованному авторами способу [16], в ходе выполнения которого проводили бактериологическое исследование. В случае отрицательного результата бактериологического исследования вторым этапом, используя метод Аппельмана в условиях *in vitro*, определяли титр бактериофага в раневом отделяемом. При наличии титра бактериофагов в раневом отделяемом, близкого к титру ранее подобранных бактериофагов, делали заключение об эффективности проводимой фаготерапии. Если при проведении бактериологического исследования получали положительный результат (наличие роста микробиоты), то в таком случае проводимую фаготерапию признавали неэффективной, применение бактериофагов прекращали, дренаж удаляли и продолжали этиотропную системную антибактериальную терапию согласно действующим на тот момент клиническим рекомендациям.

Контроль исхода лечения перипротезной инфекции проводился путём проведения очных осмотров и опросов пациентов по телефону с оформлением очных и заочных консультаций. Во время опроса акцентировали внимание на сборе анамнеза заболевания с выявлением боли в оперированном тазобедренном суставе, факта подъёма температуры, отёков, гиперемии в области послеоперационного рубца или бедра, назначения антибактериальной терапии и проведения повторных операций.

Оценка эффективности лечения проводилась согласно критериям инфекции области хирургического вме-

шательства (ИОХВ): отсутствие рецидивов перипротезной инфекции в течение 12 месяцев – излечение перипротезной инфекции; рецидив перипротезной инфекции в течение 12 месяцев – отсутствие излечения перипротезной инфекции.

Методы статистического анализа

Для описания показателей, собранных в ходе исследования, была использована описательная статистика. Для интервальных переменных были рассчитаны среднее значение (с 95%-м доверительным интервалом (95% ДИ), стандартное отклонение, мода, медиана и квартили. Для номинальных переменных были рассчитаны частоты категорий, доли в процентах.

Частотный анализ проводили точным методом Фишера, 95% ДИ для частот и для их разности были рассчитаны методом Е.В. Wilson с применением поправки на непрерывность. С учётом пилотного характера исследования различия считали статистически значимыми при уровне значимости менее установленного значения альфа, равного 0,0510. Частотный анализ проводили точным методом Фишера.

Статистический анализ был проведён с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics (версия 25.0) и свободно доступного онлайн-калькулятора доверительных интервалов для частот и для их разности на сайте <http://vassarstats.net>.

Расчёт популяционной выборки проводили на основе запланированной в настоящем исследовании гипотезы статистического равенства (equality) исследуемого метода комбинированной антибиотикофаготерапии в сравнении с методом-компаратором (только антибиотикотерапия):

$$\begin{aligned} \text{Нулевая гипотеза,} & \quad {}^0H_0: p_1 - p_0 = 0, \\ \text{Альтернативная гипотеза,} & \quad {}^0H_a: p_1 - p_0 \neq 0, \end{aligned}$$

где p_0 и p_1 – доли пациентов с ответом на лечение, определяемым как частота безрецидивных исходов лечения перипротезной инфекции в течение 12 месяцев после хирургического вмешательства при одноэтапном лечении ППИ в группах исследуемого метода и метода-компаратора соответственно. Отклонение нулевой гипотезы будет означать, что статистическое равенство отсутствует.

Расчёт был выполнен с применением формулы расчёта размера выборки для двоичной конечной точки и гипотезы равенства при условии равных по количеству ($n_0 = n_1$) участников групп [17]:

$$n_0 = n_1 = \frac{(z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta})^2}{(p_0 - p_1)^2} [p_0(1-p_0) + p_1(1-p_1)]$$

где $z_{\alpha/2}$ и z_{β} – соответствующие значения z-функции для запланированных значений ошибки I и II рода; p_0 и p_1 – доли пациентов с ответом на лечение.

При выполнении расчёта были использованы следующие исходные предположения:

1. Ожидаемая доля пациентов с ответом на лечение в группе исследуемого метода [18] – 91,7 % (≈ 90 %).
2. Ожидаемая доля пациентов с ответом на лечение в группе метода-компаратора (на основе ранее опубли-

кованных в мировой литературе результатов лечения ППИ эндопротеза бедра с применением антибиотиков и DAIR: 58 % – в ИТТ-популяции (популяции в соответствии с назначенным вмешательством) [19], 60,9 % – при использовании даптомицина в дозе 8 мг/кг [20]) – 60%.

3. Мощность исследования – 80 %.
4. Уровень значимости – 1 % (альфа = 0,10).
5. Соотношение количества пациентов в группах – 1:1 ($n_0 = n_1$).

При заданных условиях численность каждой из групп должна составить не менее чем:

$$n_0 = n_1 = \frac{(1,64 + 0,84)^2 \cdot [0,90 \cdot (1 - 0,90) + 0,60 \cdot (1 - 0,60)]}{(0,90 - 0,60)^2} = 22,55 \approx 23$$

Таким образом, потребуется набрать не менее 23 пациентов в каждую группу или суммарно не менее 46 пациентов в обе группы.

РЕЗУЛЬТАТ

За период наблюдения с января 2012 по декабрь 2020 гг. в ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России было выполнено 11 243 первичных эндопротезирования тазобедренного сустава, при этом в ходе ретроспективного анализа исходов лечения ППИ был выявлен 251 случай ППИ, из них этиологически значимыми возбудителями в 201 случае были стафилококки. По критериям включения в группы настоящего исследования из указанного 251 случая ППИ был отобран 51 пациент (часть – проспективно, часть – ретроспективно); распределение пациентов по группам представлено в разделе «Материалы и методы». Сроки развития ППИ у пациентов обеих групп различались большой вариабельностью и составляли от 3 недель, что соответствовало критериям ранней ППИ (ранней ИОХВ), до 364 недель после операции первичного эндопротезирования, что соответствовало гематогенной ППИ со сроками клинических проявлений более 3 недель. По анатомическому расположению инфекция была субфасциальной, что соответствует глубокой ППИ.

При проведении сопоставления группы сравнения и группы исследования обнаружено, что в обеих группах

среди *Staphylococcus* spp. отмечены различия. Во группе исследования представителями семейства преимущественно были коагулазонегативные стафилококки – 14 из 23 случаев, тогда как в группе сравнения коагулазонегативные стафилококки выявлены у 12 из 28 пациентов, что в абсолютных цифрах сопоставимо (табл. 1). Помимо этого, в группе исследования было 7 (30,4 %) случаев выделения метициллинрезистентных штаммов микроорганизмов, в группе сравнения – 5 (17,8 %) случаев, что также в абсолютных значениях сопоставимо.

В группе сравнения развитие рецидива ППИ у 4 пациентов произошло с 3-й по 8-ю недели после проведения одноэтапной ревизии, в период проведения второго перорального этапа антибактериальной терапии. В 1 случае из 4 повторная инфекция проявлялась в виде поверхностной (эпифасциальной) перипротезной инфекции, и при бактериологическом исследовании выделена *Pseudomonas aeruginosa*. После оперативного лечения, в ходе которого не обнаружено распространения инфекционного процесса до эндопротеза, завершившегося иссечением и ушиванием раны, была проведена этиотропная терапия с купированием воспалительного процесса. В 2 из оставшихся 3 случаев из-за острых клинических проявлений рецидивов ППИ на фоне проводимой антибактериальной терапии вынужденно избрали тактику удаления протеза с формированием дефекта тазобедренного сустава (ТБС), и в 1 случае выполнена установка спейсера с антибиотиком, который был выбран, ориентируясь на результаты предыдущего бактериологического исследования. При проведении бактериологического исследования в 3 случаях идентифицировался MSSA, и при сравнении антибиотикограмм он были идентичным исходному MSSA, что отражает сходность фенотипа. В 1 случае реэндопротезирование не проводилось из-за отказа пациента, поскольку в течение двух лет не удавалось купировать инфекционный процесс (дважды, через год, происходили рецидивы инфекционного процесса). В 2 случаях проведено ревизионное эндопротезирование в течение года с момента купирования инфекционного процесса. В 1 случае при проведении ревизионного эндопротезирования в 1 биоптате из 5 выделен MSSA, что послужило поводом для назна-

ТАБЛИЦА 1
ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

TABLE 1
ETIOLOGICAL STRUCTURE OF PERIPROSTHETIC JOINT INFECTION PATHOGENS

Количество случаев	Возбудитель ППИ				
	<i>S. epidermidis</i> (MSSE)	<i>S. epidermidis</i> (MRSE)	<i>S. aureus</i> (MSSA)	<i>S. aureus</i> (MRSA)	<i>S. hominis</i>
Группа исследования (n = 23)	8	6	8	1	–
Группа сравнения (n = 28)	5	5	16	–	2

Примечание. MSSE – метициллин-чувствительный штамм *S. epidermidis* (methicillin-sensitive *Staphylococcus epidermidis*); MRSE – метициллинрезистентный штамм *S. epidermidis* (methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*); MSSA – метициллин-чувствительный штамм *S. aureus* (methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*); MRSA – метициллинрезистентный штамм *S. aureus* (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)

чения антибактериальной терапии (АБТ) двумя антибиотиками, включая рифампицин. В другом случае при проведении ревизионного эндопротезирования из взятых биоптатов рост микробиоты не получен, а купирование инфекции косвенно подтверждается отсутствием рецидивов ППИ даже на фоне повторных вывихов бедренного компонента.

В остальных 4 случаях рецидив инфекции пришёл на период от 16 до 40 недель после одноэтапной ревизии. В 2 случаях выполнено удаление протеза с одномоментной установкой спейсера: из них в 1 случае появились клинические признаки расшатывания спейсера, и было проведено ревизионное вмешательство в варианте консервативной ревизии с имплантацией первичного эндопротеза цементной фиксации; в другом случае установленный спейсер пациента не беспокоил, клинических и рентгенологических признаков расшатывания спейсера не отмечалось, и повторная ревизия не проводилась, а отсутствие в течение года рецидивов ППИ подтвердило правильность нашей тактики. В 2 случаях выполнено удаление протеза с последующим формированием дефекта: в первом случае – в связи со сменой возбудителя, когда MSSA сменился на *E. coli*, что расценили как предиктор ППИ; во втором случае реэндопротезирование не проводили из-за отказа пациента от дальнейшего лечения. Таким образом, в группе сравнения из 28 пациентов неудовлетворительный результат отмечен в 8 случаях. Из них 5 человек пролечены с удовлетворительным результатом: в 1 случае при лечении рецидива поверхностной инфекции удалось сохранить протез; в 2 случаях вторым этапом при замене спейсера удалось провести успешное реэндопротезирование; в 1 случае после удаления эндопротеза и хирургической паузы проведено ревизионное эндопротезирование; ещё в 1 случае спейсер не удаляли из-за отсутствия признаков расшатывания и рецидивов ППИ. В 3 случаях купирование воспалительного процесса не достигнуто, и получен отрицательный результат.

В группе исследования на фоне применения фагов у 1 из 23 пациентов на 4-е сутки после операции по результатам бактериологического контроля отмечена микст-инфекция с присоединением к MRSE возбудителя *Proteus mirabilis*, и в раневом отделяемом титр бактериофага по методу Аппельмана не определялся. По факту проведения контроля фаготерапия признана неэффективной и была отменена. Пациент был исключён из группы исследования и получал этиотропную системную антибактериальную терапию по аналогии с группой сравнения, которая также в дальнейшем оказалась неэффективна и привела к рецидиву ППИ. В остальных 22 случаях после исследования в образцах раневого отделяемого на 4–5-е сутки послеоперационного периода результаты бактериологического исследования были отрицательными, т. е. роста ранее идентифицированного патогенного микроорганизма при проведении контроля не отмечено. При этом анализ титра бактериофага в раневом отделяемом в соответствии с разработанным нами способом показал, что содержание бактериофагов в раневом отделяемом достигало значений $\geq 10^2$ БОЕ/мл в первые

4 суток после начала фаготерапии (при этом концентрация бактериофагов в ежесуточно вводимом пациентом через дренажи препарате была терапевтической и составляла не менее 10^6 БОЕ/мл). Фаготерапию продолжали в течение 10 дней после операции, вводя препарат в дренаж, а в случае удаления последнего раствор коммерческого бактериофага вводили пункционным способом в область шейки эндопротеза.

Удовлетворительный результат лечения ППИ в группе исследования демонстрируется следующим клиническим примером.

Клинический пример

Больной М., 76 лет, история болезни № 89730. В 2016 г. поступил в травматолого-ортопедическое отделение № 2 ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России с диагнозом: Инфекция области хирургического вмешательства. Поздняя глубокая перипротезная инфекция левого тазобедренного сустава. Рентгенограмма тазобедренных суставов пациента в прямой проекции до операции представлена на рисунке 1. В клиничко-биохимических анализах, выполненных при поступлении пациента, повышены маркеры системного воспаления: скорость оседания эритроцитов (СОЭ) – 50 мм/ч, С-реактивный белок (СРБ) – 15,25 мг/л.



РИС. 1.
Рентгенограмма тазобедренных суставов (прямая проекция) до операции

FIG. 1.
X-ray of the hip joints (frontal projection) before surgery

Для верификации возбудителя выполнена пункция тазобедренного сустава, выявлен возбудитель *Staphylococcus epidermidis*. После проведения оценки чувствительности на антибиотики диско-диффузионным методом выявили, что данный микроорганизм устойчив к оксациллину и считается метициллинрезистент-

ным штаммом *Staphylococcus epidermidis* (MRSE). Далее определяли концентрацию (титр) жидкого коммерческого стафилококкового бактериофага для патогенного штамма *Staphylococcus epidermidis* (MRSE). Производили подсчёт негативных колоний коммерческого стафилококкового бактериофага на газоне исследуемой бактериальной культуры. Подсчёт показал, что титр жидкого коммерческого стафилококкового бактериофага составил $1,5 \times 10^6$ БОЕ/мл, что свидетельствует о хорошей чувствительности *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) к данному коммерческому раствору бактериофага.

По результатам бактериологического исследования, в ходе которого в пунктате от пациента был выявлен патогенный штамм *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) и отражена его чувствительность к раствору коммерческого стафилококкового бактериофага, пациенту провели хирургическое лечение в следующем объёме: удаление инфицированного эндопротеза; дебридмент и имплантация первичного эндопротеза левого тазобедренного сустава с цементной фиксацией импрегнированного стафилококковым бактериофагом (рис. 2).



РИС. 2.
Рентгенограмма тазобедренных суставов (прямая проекция) на 4-е сутки после операции

FIG. 2.
X-ray of the hip joints (frontal projection) on the 4th day after surgery

Операцию завершали дренированием раны, дренаж устанавливали субфасциально к шейке бедренного компонента и выводили через отдельный прокол на боковой поверхности бедра. Рану послойно ушивали. После завершения операции в дренажную трубку вводили первую дозу раствора коммерческого стафилококкового бактериофага объёмом до 20 мл, который был определён по результатам бактериологического

исследования перед операцией. Дренаж перекрывали на 12 часов. Далее продолжали ежедневно вводить стафилококковый бактериофаг через дренажную систему и на 4-е сутки послеоперационного периода производили забор из дренажной трубки раневого отделяемого в объёме от 5 до 10 мл и определяли титр бактериофагов в раневом отделяемом согласно разработанному нами способу. Достаточно высокий титр (10^4 БОЕ/мл) говорит о наличии патогенного штамма *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) в ране, поэтому для полной элиминации микроорганизмов в ране продолжали вводить этот же раствор коммерческого стафилококкового бактериофага через дренажную трубку в течение 10 суток с последующим удалением дренажа.

Проведённый в ходе лечения пациента контроль лабораторных параметров содержания маркеров воспаления в сыворотке крови, а также контроль количества лейкоцитов и температуры тела пациента показал следующее: в послеоперационном периоде температура в течение первых 3 суток была субфебрильной. Одновременно отмечали постепенное уменьшение содержания маркеров острого воспаления, проявлявшегося в виде снижения величин СОЭ и СРБ.

Рана зажила первичным натяжением. На 15-е сутки после операции пациент был выписан на амбулаторное лечение в удовлетворительном состоянии.

После завершения лечения из 22 случаев отмечен 1 рецидив ППИ через 6 недель после одноэтапной ревизии.

При единственном рецидиве ППИ в группе исследования, судя по результатам антибиотикограммы, фенотипы штаммов были одинаковы, что позволило сделать заключение об отсутствии смены возбудителя (MSSA). У пациента с рецидивом ППИ эндопротез был удалён, и спустя 10 месяцев хирургической паузы ему было выполнено реэндопротезирование с хорошим результатом.

С учётом исключения одного случая из группы исследования и включения данного пациента в группу сравнения с последующим проведением ему лечения по протоколу группы сравнения итоговое количество пациентов в группе сравнения составило 29 человек, в группе исследования – 22 человека.

По результатам опроса, спустя 12 месяцев после одноэтапной ревизии у 21 из 22 пациентов группы исследования рецидивов перипротезной инфекции не отмечено: частота успешных исходов лечения составила, таким образом, 95,45 % (95% ДИ: 0,7511–0,9976). В ходе дальнейшего наблюдения за пациентами группы исследования в сроки от 3,5 до 5,5 лет рецидивов перипротезной инфекции не зарегистрировано (табл. 2).

В группе сравнения в течение 12 месяцев наблюдения частота успешных исходов составила лишь 68,97 % – или округлённо 69 % (95% ДИ: 0,4905–0,8403), – поскольку рецидивы ППИ отсутствовали лишь у 20 пациентов из 29.

Разность частот успешных (безрецидивных) исходов лечения ППИ в течение 12-месячного срока наблюдения между группами исследования и сравнения при этом составила 26,49 % (95% ДИ: 0,0118–0,4687), при этом указан-

ТАБЛИЦА 2
ОПИСАТЕЛЬНЫЕ СТАТИСТИКИ ЧАСТОТ РЕЦИДИВОВ
ПО ГРУППАМ ПАЦИЕНТОВ

Показатель		Вид лечения ППИ		Всего
		Бактериофаги + АБТ	Только АБТ	
Рецидив ППИ в течение 12 месяцев	Нет	21	20	41
	Да	1	9	10
Всего		22	29	51

TABLE 2
DESCRIPTIVE STATISTICS OF RELAPSE RATES BY PATIENT
GROUP

ная разность частот была статистически значимой (точный двусторонний критерий Фишера = 0,030), что позволяет говорить об отсутствии статистического равенства между изучаемыми методами лечения, положенного в основу статистической гипотезы исследования, а следовательно, эффективность метода лечения, применённого к пациентам группы исследования, можно считать доказанной при уровне альфа-ошибки, равном 0,10.

Что касается рецидивов ППИ, то в группе сравнения ($n = 29$) рецидив ППИ в течение 12 месяцев был отмечен в 9 (31 %) случаях, что почти в 7 раз (6,88 раза) больше ($p = 0,030$), чем в группе исследования ($n = 22$), в которой при использовании подобранных по антибактериальной активности бактериофагов в комбинации с антибиотиками рецидив ППИ в течение 12 месяцев отмечен только у 1 (4,5 %) пациента (табл. 2). Проведённый нами анализ этиологии рецидивов ППИ показал, что при рецидивах в группе сравнения (9 случаев) возбудители были представлены MSSA (7 случаев) и MRSE (2 случая), а в группе исследования при единственном рецидиве был выделен MSSA.

ОБСУЖДЕНИЕ

В связи с тенденцией к увеличению количества резистентных штаммов бактерий [21, 22, 23], наблюдаемой в настоящее время, появляется активный интерес к фаготерапии не только в Восточной Европе, России, Грузии и Польше [24, 25, 26, 27], но и в странах Западной Европы и Америки [11], где пока ни один терапевтический фаговый препарат не был одобрен нормативно-правовой базой для использования человеком [28, 29]. В РФ бактериофаги зарегистрированы как лекарственный препарат, что даёт нам право их использовать при лечении бактериальной инфекции. Применение в настоящем исследовании бактериофагов для лечения глубокой перипротезной инфекции было обусловлено ростом метициллинрезистентных сафиллококков в этиопатогенезе инфекций, связанных с различными медицинскими имплантатами, в частности, с эндопротезами [30]. Трудности лечения перипротезной инфекции подтверждаются многими авторами. Так, например, эрадикация перипротезной инфекции ТБС, связанной с MRSA/MRSE, после двухэтапной ревизии составляет около 79 % [31].

J. Parvizi и соавт. сообщили о том, что эффективность двухэтапной ревизии при метициллинрезистентной перипротезной инфекции ТБС составляет 75 % [32]. Двухэтапное лечение перипротезной инфекции считается золотым стандартом лечения, несмотря на то, что частота рецидивов инфекции остаётся достаточно высокой. Оценивая ближайшие результаты, A. Santoso и соавт. в своём исследовании показали, что частота рецидивов ППИ составляла 23 % при двухэтапном лечении [33]. При проведении одноэтапного лечения частота рецидивов ППИ, по данным мировой литературы, составляет от 6 % до 33 % [34, 35, 36]. Одноэтапное лечение является более привлекательным из-за меньших экономических затрат с меньшим количеством операций, что более благоприятно для больного.

Выбрав в нашем исследовании одноэтапный способ лечения глубокой перипротезной инфекции по причинам, указанным ранее, но с использованием бактериофагов, и проследив за пациентами в течение 12 месяцев (по факту – от 3,5 до 5 лет), мы обнаружили всего 1 (4,5 %) случай рецидива перипротезной инфекции. Такая разница в частоте развития рецидива обусловлена, с нашей точки зрения, совместным одновременным применением бактериофагов и антибиотиков при лечении ППИ. Наличие биоплёнок на имплантатах является фактором, ограничивающим доступ антибиотиков к бактериям. Известно, что далеко не все АБ обладают биоплёнокпроникающим действием, соответственно, чтобы повлиять на бактерии, находящиеся в биоплёнке, дозы АБ необходимо увеличить в 1000 раз [37, 38]. Но даже при высоких концентрациях АБ микробные клетки, чтобы сохранить себя как род, на фоне гибели большинства клеток уклоняются в малочисленную субпопуляцию (0,001–1 %). Они способны снижать (выключать) метаболические процессы и тем самым избежать полного исчезновения штамма из-за бактерицидного действия антибиотиков [7, 39, 40], поскольку исключаются точки приложения для молекул антибиотиков при реализации их первичной фармакологической реакции как основной биохимической реакции. Но при этом, находясь в состоянии персистенции, малочисленные субпопуляции (0,001–1 %) остаются «доступными» для проникновения в них бактериофагов с закономерным литическим эффектом при условии отсутствия механизма развития резистентности к бактериофагам. Вероятно, именно из-

за наличия этого механизма в одном случае в группе исследования развился рецидив, несмотря на применение комбинированной антибактериофаготерапии.

Вышеприведённое предположение находит объяснения в большой разнице случаев рецидивов между группами сравнения и исследования. В группе сравнения 9 (31 %) случаев рецидива перипротезной инфекции можно объяснить как раз механизмом уклонения от антибиотиков и повторной колонизацией эндопротеза, что в результате и проявляется клинической симптоматикой рецидива ППИ. Это, по нашему мнению, подтверждается тем, что выделенные при рецидиве стафилококки были идентичны по антибиотикограмме стафилококкам, которые были идентифицированы при развитии глубокой перипротезной инфекции. Этот факт согласуется с общепринятой точкой зрения, в которой бактериальные клетки-персистеры (persister – стойкая бактерия) [41] безразличны к наличию любых антибиотиков в их окружении. Это явление устойчивости называют множественной лекарственной толерантностью или антибиотикотолерантностью (АТ), которое отличается от классической антибиотикорезистентности (АР), так как последнее совершается при активных метаболических процессах в бактерии [42, 43]. В связи с этим в нашем исследовании применяются бактериофаги, которые предположительно воздействуют на биоплёнку, проникая сквозь неё либо нарушая её целостность и тем самым вызывая лизис бактерий за счёт проникновения бактериофагов либо из-за перфорации биоплёнки, в результате чего последняя становится проницаемой для применяемых антибиотиков, что позволяет в том числе воздействовать и на бактерии, находящиеся в состоянии персистенции, и в конечном итоге достигнуть низкой частоты рецидива (4,5 %) ППИ у таких пациентов. В поддержку этого предположения можно упомянуть то, что одновременное воздействие бактериофагов на резистентные штаммы микроорганизмов по независимому механизму действия от антибиотиков усиливает бактерицидный эффект последних [44, 45].

Таким образом, при лечении перипротезной инфекции сочетание подобранных по антибактериальной активности бактериофагов в комбинации с этиотропной антибиотикотерапией в должных дозах и сроках применения представляет собой перспективное направление лечения инфекций, связанных с различными медицинскими имплантатами, в частности с эндопротезами, вызванных резистентными микроорганизмами. Возможно, воздействие на бактериальные клетки одновременно двух антибактериальных препаратов, различающихся по механизму действия, затрудняет формирование защитных свойств бактерий (резистентности), а уклоняющиеся за счёт наличия АТ бактерии в варианте малых колоний остаются доступными для бактериофагов.

ВЫВОДЫ

При сравнении частоты рецидивов ППИ в течение 12 месяцев в группах сравнения и исследования эффективность сочетания этиотропной АБТ и локальной бак-

териофаготерапии составила 95,5 %, а эффективность лечения без применения бактериофагов – 69 %. Развитие методов лечения перипротезной инфекции с применением бактериофаготерапии является перспективным направлением с учётом роста резистентности микроорганизмов.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fuchs M, von Roth P, Pfitzner T, Kopf S, Sass FA. Contamination of irrigation fluid during primary total knee arthroplasty. *J Am Acad Orthop Surg Glob Res Rev.* 2018; 2(5): e027. doi: 10.5435/JAAOSGlobal-D-17-00027
2. Roth VR, Mitchell R, Vachon J, Alexandre S, Amaratunga K, Smith S, et al. Periprosthetic infection following primary hip and knee arthroplasty: the impact of limiting the postoperative surveillance period. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2017; 38(2): 147-153. doi: 10.1017/ice.2016.256
3. Grammatopoulos G, Kendrick B, McNally M, Athanasou NA, Atkins B, McLardy-Smith P, et al. Outcome following debridement, antibiotics, and implant retention in hip periprosthetic joint infection – An 18-year experience. *J Arthroplasty.* 2017; 32(7): 2248-2255. doi: 10.1016/j.arth.2017.02.066
4. Akgün D, Müller M, Perka C, Winkler T. An often-unrecognized entity as cause of recurrent infection after successfully treated two-stage exchange arthroplasty: hematogenous infection. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2018; 138(9): 1199-1206. doi: 10.1007/s00402-018-2972-3
5. Jhan SW, Lu YD, Lee MS, Lee CH, Wang JW, Kuo FC. The risk factors of failed reimplantation arthroplasty for periprosthetic hip infection. *BMC Musculoskelet. Disord.* 2017; 18(1): 1-7. doi: 10.1186/s12891-017-1622-1
6. Shahi A, Tan TL, Chen AF, Maltenfort MG, Parvizi J. In-hospital mortality in patients with periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty.* 2017; 32(3): 948-952. doi: 10.1016/j.arth.2016.09.027
7. Son MS, Lau E, Parvizi J, Mont MA, Bozic KJ, Kurtz S. What are the frequency, associated factors, and mortality of amputation and arthrodesis after a failed infected TKA? *Clin Orthop Relat Res.* 2017; 475(12): 2905-2913. doi: 10.1007/s11999-017-5285-x
8. Canham CD, Walsh CP, Incavo SJ. Antibiotic impregnated total femur spacers: A technical tip. *Arthroplast Today.* 2018; 4(1): 65-70. doi: 10.1016/j.artd.2017.06.001
9. Kliushin NM, Ababkov YV, Ermakov AM, Malkova TA. Modified Girdlestone arthroplasty and hip arthrodesis using the Ilizarov external fixator as a salvage method in the management of severely infected total hip replacement. *Indian J Orthop.* 2016; 50(1): 16-24. doi: 10.4103/0019-5413.173513
10. Тикунова Н.В., Власов В.В. Бактериофаги – враги наших врагов. *Наука из первых рук.* 2013; 2(50): 58-69.
11. Malik DJ, Sokolov IJ, Vinner GK, Mancuso F, Cinquerrri S, Vladisavljevic GT, et al. Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017; 249: 100-133. doi: 10.1016/j.cis.2017.05.014

12. Самохин А.Г., Козлова Ю.Н., Корнеев Д.В., Таранов О.С., Фёдоров Е.А., Павлов В.В., и др. Экспериментальное исследование антибактериальной активности литического стафилококкового бактериофага ph20 и литического бактериофага синегнойной палочки ph57 при моделировании их импрегнации в ортопедические полимерные конструкции из полиметилметакрилата (костного цемента). *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2018; 73(1): 59-68. doi: 10.15690/vramn905
13. Parvizi J, Gehrke T, Chen AF. Proceedings of the international consensus on periprosthetic joint infection. *Bone Joint J*. 2013; 95-B(11): 1450-1452. doi: 10.1302/0301-620X.95B11.33135
14. Parvizi J, Fassihi SC, Enayatollahi MA. Diagnosis of periprosthetic joint infection following hip and knee arthroplasty. *Orthop Clin North Am*. 2016; 47(3): 505-515. doi: 10.1016/j.joc.2016.03.001
15. Tsukayama DT, Estrada R, Gustilo RB. Infection after total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 1996; 78(4): 512-523. doi: 10.2106/00004623-199604000-00005
16. Павлов В.В., Самохин А.Г., Козлова Ю.Н., Федоров Е.А., Прохоренко В.М., Кретьен С.О., и др. *Способ оценки эффективности фаготерапии при лечении хирургических инфекций*: Патент № 2624511 Рос. Федерация; МПК G01N 33/48 (2006.01), C12Q 1/04 (2006.01). Заявл. 03.08.2016; опубл. 04.07.2017. Бюл. № 19.
17. Chow SC, Shao J, Wang H, Lokhnygina Y. *Sample size calculations in clinical research*. Chapman and Hall/CRC; 2017
18. Самохин А.Г., Фёдоров Е.А., Козлова Ю.Н., Тихунова Н.В., Павлов В.В., Морозова В.В., и др. Применение литических бактериофагов при хирургическом лечении парапротезной инфекции эндопротеза тазобедренного сустава (пилотное исследование). *Современные проблемы науки и образования*. 2016; 6: 209. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25851> [Дата доступа: 02.09.2020]. doi: 10.17513/spno.25851
19. Lora-Tamayo J, Euba G, Cobo J, Horcajada JP, Soriano A, Sandoval E, et al. Short- versus long-duration levofloxacin plus rifampicin for acute staphylococcal prosthetic joint infection managed with implant retention: A randomised clinical trial. *Int J Antimicrob Agents*. 2016; 48(3): 310-316. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.05.021
20. Byren I, Rege S, Campanaro E, Yankelev S, Anastasiou D, Kuropatkin G, et al. Randomized controlled trial of the safety and efficacy of Daptomycin versus standard-of-care therapy for management of patients with osteomyelitis associated with prosthetic devices undergoing two-stage revision arthroplasty. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56(11): 5626-5632. doi: 10.1128/AAC.00038-12
21. Божкова С.А., Касимова А.Р., Тихилов Р.М., Полякова Е.М., Рукина А.Н., Шабанова В.В., и др. Неблагоприятные тенденции в этиологии ортопедической инфекции: результаты 6-летнего мониторинга структуры и резистентности ведущих возбудителей. *Травматология и ортопедия России*. 2018; 24(4): 20-31. doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-4-20-31
22. Mullen A, Wieland HJ, Wieser ES, Spannhake EW, Marinis RS. Perioperative participation of orthopedic patients and surgical staff in a nasal decolonization intervention to reduce *Staphylococcus* spp. surgical site infections. *Am J Infect Control*. 2017; 45(5): 554-556. doi: 10.1016/j.ajic.2016.12.021
23. Rosteius T, Jansen O, Fehmer T, Baecker H, Citak M, Schilthauer TA, et al. Evaluating the microbial pattern of periprosthetic joint infections of the hip and knee. *J Med Microbiol*. 2018; 67(11): 1608-1613. doi: 10.1099/jmm.0.000835
24. Gorski A, Miedzybrodzki R, Borysowski J, Weber-Dabrowska B, Lobočka M, Fortuna W, et al. Bacteriophage therapy for the treatment of infections. *Curr Opin Investig Drugs*. 2009; 10(8): 766-774.
25. Kutateladze M, Adamia R. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends Biotechnol*. 2010; 28(12): 591-595. doi: 10.1016/j.tibtech.2010.08.001
26. Morozova V, Kozlova Y, Shedko E, Babkin I, Kurilshikov A, Bokovaya O, et al. Isolation and characterization of a group of new *Proteus* bacteriophages. *Arch Virol*. 2018; 163(8): 2189-2197. doi: 10.1007/s00705-018-3853-3
27. Sabitova Y, Fomenko N, Tikunov A, Stronin O, Khasnatinov M, Abmed D, et al. Multilocus sequence analysis of *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates from Western Siberia, Russia and Northern Mongolia. *Infect Genet Evol*. 2018; 62: 160-169. doi: 10.1016/j.meegid.2018.04.015
28. Kakasis A, Panitsa G. Bacteriophage therapy as an alternative treatment for human infections. A comprehensive review. *Int J Antimicrob Agents*. 2019; 53(1): 16-21. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.09.004
29. Moelling K, Broecker F, Willy C. A wake-up call: we need phage therapy now. *Viruses*. 2018; 10(12): 688. doi: 10.3390/v10120688
30. Sohail M, Latif Z. Prevalence and antibiogram of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from medical device-related infections; a retrospective study in Lahore, Pakistan. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2017; 50(5): 680-684. doi: 10.1590/0037-8682-0352-2016
31. Leung F, Richards CJ, Garbuz DS, Masri BA, Duncan CP. Two-stage total hip arthroplasty: How often does it control methicillin-resistant infection? *Clin Orthop Relat Res*. 2011; 469(4): 1009-1015. doi: 10.1007/s11999-010-1725-6
32. Parvizi J, Azzam K, Ghanem E, Austin MS, Rothman RH. Periprosthetic infection due to resistant staphylococci: Serious problems on the horizon. *Clin Orthop Relat Res*. 2009; 467(7): 1732-1739. doi: 10.1007/s11999-009-0857-z
33. Santoso A, Anwar IB, Sibarani TS, Soetjahjo B, Yoon TR, Park K, et al. The results of two-stage revision for methicillin-resistant periprosthetic joint infection (PJI) of the hip. *Orthop J Sports Med*. 2020; 8(5): 18-23. doi: 10.5704/JOJ.2003.003
34. Abdelaziz H, Grüber H, Gehrke T, Salber J, Citak M. What are the factors associated with re-revision after one-stage revision for periprosthetic joint infection of the hip? A case-control study. *Clin Orthop Relat Res*. 2019; 477(10): 2258-2263. doi: 10.1097/CORR.0000000000000780
35. Zahar A, Klaber I, Gerken AM, Gehrke T, Gebauer M, Lausmann C, et al. Ten-year results following one-stage septic hip exchange in the management of periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty*. 2019; 34(6): 1221-1226. doi: 10.1016/j.arth.2019.02.021
36. Zeller V, Lhotellier L, Marmor S, Leclerc P, Krain A, Graff W, et al. One-stage exchange arthroplasty for chronic periprosthetic hip infection: Results of a large prospective cohort study. *JBJS*. 2014; 96(1): e1. doi: 10.2106/JBJS.L.01451
37. Петрова Н.В. Диагностика имплант-ассоциированных инфекций в ортопедии с позиции доказательной медицины. *Хирургия позвоночника*. 2012; 1: 74-83. doi: 10.14531/ss2012.1.74-83
38. Izakovicova P, Borens O, Trampuz A. Periprosthetic joint infection: Current concepts and outlook. *EFORT Open Rev*. 2019; 4(7): 482-494. doi: 10.1302/2058-5241.4.180092

39. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol.* 2007; 5(1): 48-56. doi: 10.1038/nrmicro1557

40. Gefen O, Balaban NQ. The importance of being persistent: Heterogeneity of bacterial populations under antibiotic stress. *FEMS Microbiol. Rev.* 2009; 33(4): 704-717. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00156.x

41. Bigger JW. Treatment of Staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilization. *Lancet.* 1944; 244(6320): 497-500. doi: 10.1016/S0140-6736(00)74210-3

42. Balaban NQ, Gerdes K, Lewis K, McKinney J. A problem of persistence: Still more questions than answers? *Nature Rev Microbiol.* 2013; 11(8): 587-591. doi: 10.1038/nrmicro3076

43. Lewis K. Persister cells. *Annu Rev Microbiol.* 2010; 64(1): 357-372. doi: 10.1146/annurev.micro.112408.134306

44. Fenton M, McAuliffe O, O'Mahony J, Coffey A. Recombinant bacteriophage lysins as antibacterials. *Bioeng Bugs.* 2010; 1(1): 9-16. doi: 10.4161/bbug.1.1.9818

45. Hughes KA, Sutherland IW, Jones MV. Biofilm susceptibility to bacteriophage attack: The role of phage-borne polysaccharide depolymerase. *Microbiology.* 1998; 144(11): 3039-3047. doi: 10.1099/00221287-144-11-3039

REFERENCES

1. Fuchs M, von Roth P, Pfitzner T, Kopf S, Sass FA. Contamination of irrigation fluid during primary total knee arthroplasty. *J Am Acad Orthop Surg Glob Res Rev.* 2018; 2(5): e027. doi: 10.5435/JAAOSGlobal-D-17-00027

2. Roth VR, Mitchell R, Vachon J, Alexandre S, Amaratunga K, Smith S, et al. Periprosthetic infection following primary hip and knee arthroplasty: the impact of limiting the postoperative surveillance period. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2017; 38(2): 147-153. doi: 10.1017/ice.2016.256

3. Grammatopoulos G, Kendrick B, McNally M, Athanasou NA, Atkins B, McLardy-Smith P, et al. Outcome following debridement, antibiotics, and implant retention in hip periprosthetic joint infection – An 18-year experience. *J Arthroplasty.* 2017; 32(7): 2248-2255. doi: 10.1016/j.arth.2017.02.066

4. Akgün D, Müller M, Perka C, Winkler T. An often-unrecognized entity as cause of recurrent infection after successfully treated two-stage exchange arthroplasty: hematogenous infection. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2018; 138(9): 1199-1206. doi: 10.1007/s00402-018-2972-3

5. Jhan SW, Lu YD, Lee MS, Lee CH, Wang JW, Kuo FC. The risk factors of failed reimplantation arthroplasty for periprosthetic hip infection. *BMC Musculoskelet. Disord.* 2017; 18(1): 1-7. doi: 10.1186/s12891-017-1622-1

6. Shahi A, Tan TL, Chen AF, Maltenfort MG, Parvizi J. In-hospital mortality in patients with periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty.* 2017; 32(3): 948-952. doi: 10.1016/j.arth.2016.09.027

7. Son MS, Lau E, Parvizi J, Mont MA, Bozic KJ, Kurtz S. What are the frequency, associated factors, and mortality of amputation and arthrodesis after a failed infected TKA? *Clin Orthop Relat Res.* 2017; 475(12): 2905-2913. doi: 10.1007/s11999-017-5285-x

8. Canham CD, Walsh CP, Incavo SJ. Antibiotic impregnated total femur spacers: A technical tip. *Arthroplast Today.* 2018; 4(1): 65-70. doi: 10.1016/j.artd.2017.06.001

9. Kliushin NM, Ababkov YV, Ermakov AM, Malkova TA. Modified Girdlestone arthroplasty and hip arthrodesis using the Ilizarov external fixator as a salvage method in the management of severely infected total hip replacement. *Indian J Orthop.* 2016; 50(1): 16-24. doi: 10.4103/0019-5413.173513

10. Тикунова Н.В., Власов В.В. Бактериофаги – враги наших врагов. Наука из первых рук. 2013; 2(50): 58-69.

11. Malik DJ, Sokolov IJ, Vinner GK, Mancuso F, Cinquerrri S, Vladislavjevic GT, et al. Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017; 249: 100-133. doi: 10.1016/j.cis.2017.05.014

12. Samokhin AG, Kozlova JN, Korneev DV, Taranov OS, Fedorov EA, Pavlov VV, et al. Experimental study of the antibacterial activity of the lytic *Staphylococcus aureus* bacteriophage ph20 and lytic *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophage ph57 during modelling of its impregnation into poly(methylmetacrylate) orthopedic implants (bone cement). *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2018; 73(1): 59-68. (In Russ.). doi: 10.15690/vramn905

13. Parvizi J, Gehrke T, Chen AF. Proceedings of the international consensus on periprosthetic joint infection. *Bone Joint J.* 2013; 95-B(11): 1450-1452. doi: 10.1302/0301-620X.95B11.33135

14. Parvizi J, Fassihi SC, Enayatollahi MA. Diagnosis of periprosthetic joint infection following hip and knee arthroplasty. *Orthop Clin North Am.* 2016; 47(3): 505-515. doi: 10.1016/j.ocl.2016.03.001

15. Tsukayama DT, Estrada R, Gustilo RB. Infection after total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 1996; 78(4): 512-523. doi: 10.2106/00004623-199604000-00005

16. Pavlov VV, Samokhin AG, Kozlova YuN, Fedorov EA, Prokhorenko VM, Kretien SO, et al. Method for assessing the effectiveness of phage therapy in the treatment of surgical infections: Patent N 2624511 of the Russian Federation. 2017; (19). (In Russ.)

17. Chow SC, Shao J, Wang H, Lokhnygina Y. *Sample size calculations in clinical research.* Chapman and Hall/CRC; 2017

18. Samokhin AG, Fedorov EA, Kozlova YuN, Tikunova NV, Pavlov VV, Morozova VV, et al. Application of lytic bacteriophages in surgical treatment of paraprosthesis infection of a hip joint endoprosthesis (pilot study). *Modern problems of science and education.* 2016; 6: 209. URL: <https://www.science-education.ru/article/view?id=25851> [Date of access: 02.09.2020]. (In Russ.). doi: 10.17513/spno.25851

19. Lora-Tamayo J, Euba G, Cobo J, Horcajada JP, Soriano A, Sandoval E, et al. Short- versus long-duration levofloxacin plus rifampicin for acute staphylococcal prosthetic joint infection managed with implant retention: A randomised clinical trial. *Int J Antimicrob Agents.* 2016; 48(3): 310-316. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.05.021

20. Byren I, Rege S, Campanaro E, Yankelev S, Anastasiou D, Kuropatkin G, et al. Randomized controlled trial of the safety and efficacy of Daptomycin versus standard-of-care therapy for management of patients with osteomyelitis associated with prosthetic devices undergoing two-stage revision arthroplasty. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56(11): 5626-5632. doi: 10.1128/AAC.00038-12

21. Bozhkova SA, Kasimova AR, Tikhilov RM, Polyakova EM, Rukina AN, Shabanova VV, et al. Adverse trends in the etiology of orthopedic infection: results of 6-year monitoring of the structure and resistance of leading pathogens. *Traumatology and Orthopedics of Russia.* 2018; 24(4): 20-31. (In Russ.). doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-4-20-31

22. Mullen A, Wieland HJ, Wieser ES, Spannhake EW, Marinon RS. Perioperative participation of orthopedic patients and surgical staff in a nasal decolonization intervention to reduce *Staphylococcus* spp. surgical site infections. *Am J Infect Control*. 2017; 45(5): 554-556. doi: 10.1016/j.ajic.2016.12.021
23. Rosteius T, Jansen O, Fehmer T, Baecker H, Citak M, Schilthauer TA, et al. Evaluating the microbial pattern of periprosthetic joint infections of the hip and knee. *J Med Microbiol*. 2018; 67(11): 1608-1613. doi: 10.1099/jmm.0.000835
24. Gorski A, Miedzybrodzki R, Borysowski J, Weber-Dabrowska B, Lobočka M, Fortuna W, et al. Bacteriophage therapy for the treatment of infections. *Curr Opin Investig Drugs*. 2009; 10(8): 766-774.
25. Kutateladze M, Adamia R. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends Biotechnol*. 2010; 28(12): 591-595. doi: 10.1016/j.tibtech.2010.08.001
26. Morozova V, Kozlova Y, Shedko E, Babkin I, Kurilshikov A, Bokovaya O, et al. Isolation and characterization of a group of new *Proteus* bacteriophages. *Arch Virol*. 2018; 163(8): 2189-2197. doi: 10.1007/s00705-018-3853-3
27. Sabitova Y, Fomenko N, Tikunov A, Stronin O, Khasnatinov M, Abmed D, et al. Multilocus sequence analysis of *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates from Western Siberia, Russia and Northern Mongolia. *Infect Genet Evol*. 2018; 62: 160-169. doi: 10.1016/j.meegid.2018.04.015
28. Kakasis A, Panitsa G. Bacteriophage therapy as an alternative treatment for human infections. A comprehensive review. *Int J Antimicrob Agents*. 2019; 53(1): 16-21. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.09.004
29. Moelling K, Broecker F, Willy C. A wake-up call: we need phage therapy now. *Viruses*. 2018; 10(12): 688. doi: 10.3390/v10120688
30. Sohail M, Latif Z. Prevalence and antibiogram of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from medical device-related infections; a retrospective study in Lahore, Pakistan. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2017; 50(5): 680-684. doi: 10.1590/0037-8682-0352-2016
31. Leung F, Richards CJ, Garbuz DS, Masri BA, Duncan CP. Two-stage total hip arthroplasty: How often does it control methicillin-resistant infection? *Clin Orthop Relat Res*. 2011; 469(4): 1009-1015. doi: 10.1007/s11999-010-1725-6
32. Parvizi J, Azzam K, Ghanem E, Austin MS, Rothman RH. Periprosthetic infection due to resistant staphylococci: Serious problems on the horizon. *Clin Orthop Relat Res*. 2009; 467(7): 1732-1739. doi: 10.1007/s11999-009-0857-z
33. Santoso A, Anwar IB, Sibarani TS, Soetjahjo B, Yoon TR, Park K, et al. The results of two-stage revision for methicillin-resistant periprosthetic joint infection (PJI) of the hip. *Orthop J Sports Med*. 2020; 8(5): 18-23. doi: 10.5704/MOJ.2003.003
34. Abdelaziz H, Grüber H, Gehrke T, Salber J, Citak M. What are the factors associated with re-revision after one-stage revision for periprosthetic joint infection of the hip? A case-control study. *Clin Orthop Relat Res*. 2019; 477(10): 2258-2263. doi: 10.1097/CORR.0000000000000780
35. Zahar A, Klaber I, Gerken AM, Gehrke T, Gebauer M, Lausmann C, et al. Ten-year results following one-stage septic hip exchange in the management of periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty*. 2019; 34(6): 1221-1226. doi: 10.1016/j.arth.2019.02.021
36. Zeller V, Lhotellier L, Marmor S, Leclerc P, Krain A, Graff W, et al. One-stage exchange arthroplasty for chronic periprosthetic hip infection: Results of a large prospective cohort study. *JBJS*. 2014; 96(1): e1. doi: 10.2106/JBJS.L.01451
37. Petrova NV. Evidence-based diagnosis of implant-associated infection in orthopedic surgery. *Spine Surgery*. 2012; 1: 74-83. (In Russ.). doi: 10.14531/ss2012.1.74-83
38. Izakovicova P, Borens O, Trampuz A. Periprosthetic joint infection: Current concepts and outlook. *EFORT Open Rev*. 2019; 4(7): 482-494. doi: 10.1302/2058-5241.4.180092
39. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol*. 2007; 5(1): 48-56. doi: 10.1038/nrmicro1557
40. Gefen O, Balaban NQ. The importance of being persistent: Heterogeneity of bacterial populations under antibiotic stress. *FEMS Microbiol. Rev*. 2009; 33(4): 704-717. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00156.x
41. Bigger JW. Treatment of Staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilization. *Lancet*. 1944; 244(6320): 497-500. doi: 10.1016/S0140-6736(00)74210-3
42. Balaban NQ, Gerdes K, Lewis K, McKinney J. A problem of persistence: Still more questions than answers? *Nature Rev Microbiol*. 2013; 11(8): 587-591. doi: 10.1038/nrmicro3076
43. Lewis K. Persister cells. *Annu Rev Microbiol*. 2010; 64(1): 357-372. doi: 10.1146/annurev.micro.112408.134306
44. Fenton M, McAuliffe O, O'Mahony J, Coffey A. Recombinant bacteriophage lysins as antibacterials. *Bioeng Bugs*. 2010; 1(1): 9-16. doi: 10.4161/bbug.1.1.9818
45. Hughes KA, Sutherland IW, Jones MV. Biofilm susceptibility to bacteriophage attack: The role of phage-borne polysaccharide depolymerase. *Microbiology*. 1998; 144(11): 3039-3047. doi: 10.1099/00221287-144-11-3039

Сведения об авторах

Фёдоров Евгений Александрович – врач травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения № 2, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: evgeniifedorov1987@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4084-4956>

Кретъен Светлана Олеговна – заведующая бактериологической лабораторией, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: Skretien@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0074-8062>

Самохин Александр Геннадьевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лабораторно-экспериментального отдела, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0001-5599-3925>

Тикунова Нина Викторовна – заведующая лабораторией молекулярной биологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: tikunova@niboch.nsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1687-8278>

Корыткин Андрей Александрович – кандидат медицинских наук, директор, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0001-9231-5891>

Павлов Виталий Викторович – доктор медицинских наук, начальник научно-исследовательского отделения эндопротезирования и эндоскопической хирургии суставов, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: pavlovdoc@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8997-7330>

Information about the authors

Evgeny A. Fedorov – Orthopedic Traumatologist at the Trauma-Orthopedic Department N 2, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, e-mail: evgeniifedorov1987@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4084-4956>

Svetlana O. Kretien – Head of the Bacteriological Laboratory, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, e-mail: Skretien@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0074-8062>

Alexander G. Samokhin – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory and Experimental Department, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, <https://orcid.org/0000-0001-5599-3925>

Nina V. Tikunova – Head of the Laboratory of Molecular Biology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: tikunova@niboch.nsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1687-8278>

Andrey A. Korytkin – Cand. Sc. (Med.), Director, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, <https://orcid.org/0000-0001-9231-5891>

Vitaliy V. Pavlov – Dr. Sc. (Med.), Head of the Endoprosthesis and Endoscopic Joint Surgery Research Department, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, e-mail: pavlovdoc@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8997-7330>

Вклад авторов

Фёдоров Е.А. – проведение исследования, идея, обсуждение концепции, апробация методики, подборка и анализ материала, формулирование выводов, формирование текста статьи, редакция.

Кретьен С.О. – участие в проведении исследования, участие в обсуждении концепции и анализе материала.

Самохин А.Г. – статистический анализ данных, участие в обсуждении концепции и анализе материала, редакция.

Тикунова Н.В. – идея, участие в обсуждении концепции и анализе материала, редакция.

Корыткин А.А. – организация проведения исследования, обсуждение концепции, редакция.

Павлов В.В. – научный руководитель проекта, идея, организация проведения исследования, обсуждение концепции, редакция.