

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

www.iacmac.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

Подписка на сайте издателя
<https://service.iacmac.ru>

Адрес для корреспонденции
214019, г. Смоленск, а/я 5.
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:
cmac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:
<https://cmac-journal.ru>

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2022.

Содержание

Болезни и возбудители

Синяев А.А., Гриненко А.О., Попова М.О., Рогачева Ю.А., Спиридонова А.А., Власова Ю.Ю., Смирнова А.Г., Морозова Е.В., Лепик К.В., Михайлова Н.Б., Владовская М.Д., Бондаренко С.Н., Моисеев И.С., Кулагин А.Д.

196 Новая коронавирусная инфекция у реципиентов трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

202 Федотов В.Д., Жестков А.В., Лямин А.В., Заславская М.И., Добротина И.С., Туличев А.А. Микробиом, обострение и прогрессирование ХОБЛ: есть ли выход?

213 Ткачев П.В., Гончаров А.Е., Дмитриев А.В. Умеренные бактериофаги энтерококков: генетические особенности и практическое применение

Антимикробные препараты

220 Захаренков И.А., Рачина С.А., Козлов Р.С., Белькова Ю.А. Потребление системных антибиотиков в России в 2017–2021 гг.: основные тенденции

226 Кароли Н.А., Ребров А.П. Некоторые проблемы, связанные с безопасностью антибактериальной терапии у больных COVID-19

Антибиотикорезистентность

236 Павлова А.С., Егорова А.Е., Крутова Н.Е., Саенко С.С., Михайлова Ю.В., Гусева А.Н., Чеботарь И.В., Подколзин А.Т., Кулешов К.В., Акимкин В.Г. Распространенность и характеристика БЛРС-продуцирующих штаммов *Salmonella enterica*, циркулирующих на территории России (2016–2020 гг.)

248 Позднякова-Филатова И.Ю., Загоскин А.А., Захарова М.В., Нагорных М.О. Анализ генов, кодирующих белки семейства МБЛ-подобных металлопротеиназ, штамма-деструктора компонентов нефти *Pseudomonas putida* BS3701

Микробиологическая диагностика

254 Азизов И.С., Мартинович А.А. Выявление *mcg-1*-опосредованной резистентности к полимиксинам у бактерий порядка *Enterobacteriales* методом нанесения хелаторов на диск с колистином

Опыт работы

261 Андреев С.С., Рязанцева Е.В., Мальцева Н.П., Мутовина З.Ю., Фомина Д.С., Лысенко М.А. Инфекционный эндокардит, вызванный *Corynebacterium amycolatum*, у пациента с COVID-19 тяжелого течения: описание клинического случая

268 Гординская Н.А., Борискина Е.В., Кряжев Д.В. Фенотипические и молекулярно-генетические особенности антибиотикорезистентности клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae* в стационарах Нижнего Новгорода

274 Стрелкова Д.А., Рачина С.А., Кулешов В.Г., Бурмистрова Е.Н., Сычев И.Н., Ананичева Н.А., Васильева Ю.Ю., Чуркина Е.А. Микробиологический мониторинг пациентов с COVID-19 в ОРИТ: проспективное наблюдательное исследование

283 Гордина Е.М., Божкова С.А., Смирнова Л.Н. Влияние бактериофагов на биопленки *Staphylococcus aureus*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией

DOI: 10.36488/cmasc.2022.3.283-288

Оригинальная статья

Влияние бактериофагов на биопленки *Staphylococcus aureus*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией

Гордина Е.М., Божкова С.А., Смирнова Л.Н.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Контактный адрес:
Екатерина Михайловна Гордина
Эл. почта: emgordina@niito.ru

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, биопленки, бактериофаг, ортопедическая инфекция.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Оценить действие комбинированного препарата бактериофагов на биопленкообразование (БПО) и сформированные биопленки *S. aureus*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией.

Материалы и методы. Протестировано 50 клинических изолятов *S. aureus*, полученных от пациентов, находящихся на стационарном лечении. Видовую идентификацию выполняли методом MALDI-TOF масс-спектрометрии, определение чувствительности к антибиотикам – в соответствии с рекомендациями EUCAST (v21). Фагочувствительность изолятов к препарату бактериофагов «Секстафаг» («Микроген», Россия) определяли на мясопептонном агаре. Антибактериальное действие фагов в отношении *S. aureus* ATCC 29213 и *S. aureus* ATCC 43300 оценивали путем построения кинетических кривых роста. Биопленки чувствительных к бактериофагам штаммов *S. aureus* формировали по методу O'Toole (2011). Степень БПО оценивали в соответствии с критериями Stepanovic. Влияние бактериофагов на формирование биопленки *S. aureus* изучали путем совместной инкубации фагов и бактерий с последующим расчетом процентного ингибирования относительно контроля без внесения препарата. Действие фагов на сформированные биопленки определили путем обработки 24-часовых пленок *S. aureus* препаратом в течение суток и с контролем.

Результаты. Среди изученных 50 клинических штаммов *S. aureus* чувствительными к действию фагов были 43 изолята (86%), включая 22 MSSA и 21 MRSA. Все тестируемые фагочувствительные культуры характеризовались биопленкообразующей способностью различной степени выраженности: 28% – слабой, 35% – умеренной, 37% – сильной. Ингибирование формирования биопленок определяли у всех протестированных штаммов MRSA, при этом у 73% изолятов индекс ингибирования БПО был более 80%, что превышало данный показатель для MSSA в 2,5 раза. В свою очередь, деструкция сформированной биопленки под действием бактериофага составила 72% для всех *S. aureus*. У 57% штаммов MSSA снижение биомассы биопленки в сравнении с контролем составило более 80%, при этом данный показатель был в 2 раза выше, чем у MRSA.

Выводы. Полученные результаты позволяют говорить о высокой эффективности препарата бактериофагов *in vitro* в отношении БПО как одного из главных факторов персистенции стафилококков.

Original Article

Effects of bacteriophages on biofilms formed by *Staphylococcus aureus* isolated from patients with orthopedic infection

Gordina E.M., Bozhkova S.A., Smirnova L.N.

Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, Saint-Petersburg, Russia

Contacts:
Ekaterina M. Gordina
E-mail: emgordina@niito.ru

Key words: *Staphylococcus aureus*, biofilms, bacteriophage, orthopedic infection.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

Objective. To study effects of bacteriophages on biofilm formation and formed biofilm by *S. aureus* isolated from patients with orthopedic infection.

Materials and methods. A total of 50 clinical strains of *S. aureus* were tested. Species identification was performed by MALDI-TOF MS, antibiotic susceptibility – in accordance with the EUCAST v21. Isolates susceptibility to bacteriophages «Sextafag» (Microgen, Russia) was determined by MPA medium. The antibacterial activity of phages against *S. aureus* ATCC 29213 and *S. aureus* ATCC 43300 was evaluated by growth kinetic curves. Biofilms of bacteriophage-sensitive *S. aureus* strains were formed according to the protocol described by O'Toole. Isolates were divided into categories in accordance with the Stepanovic criteria. The effects of bacteriophages on the formation of *S. aureus* biofilm were studied by co-incubation of phages and bacteria followed by calculation of the percentage inhibition relative to the control without the introduction of the phages. The effect of phages on 24-hour biofilms formed by staphylococci was also evaluated in comparison with the control.

Results. Out of 50 clinical *S. aureus* strains studied, 43 isolates (86%) were susceptible to phages, including 22 MSSA and 21 MRSA. All phage-susceptible cultures were characterized by biofilm-forming ability of varying degree: 28% – weak biofilm producer, 35% – moderate, 37% – strong. Inhibition of

Гордина Е.М. и соавт.

Влияние бактериофагов на биопленки *Staphylococcus aureus*

283

biofilm formation was determined in all tested MRSA strains, while in 73% of isolates the index of biofilm formation inhibition was more than 80%, which exceeded this indicator for MSSA by 2.5 times. In turn, the destruction of the formed biofilm under the action of the bacteriophage was 72% for all *S. aureus*. In 57% of MSSA strains, the decrease in biofilm biomass in comparison with the control was more than 80%, while this indicator was 2 times higher than for MRSA.

Conclusions. The results demonstrated a high *in vitro* efficacy of bacteriophages against biofilm formation in *S. aureus*.

Введение

Инфекция протезированных суставов является важной проблемой современной медицины. По данным литературы, частота развития данного осложнения составляет от 2,5% после первичного эндопротезирования до 20% после ревизионных операций, при этом летальность от данного осложнения достигает 2,5% [1]. В случае выполнения ревизионной операции по поводу уже имеющейся инфекции, ее рецидивы развиваются в 25–67% [2]. Особенности инфекционных осложнений ортопедических вмешательств являются слабовыраженная воспалительная реакция организма пациента, а также способность патогенов к адгезии и формированию биопленок на поверхностях костей и имплантатов [3, 4]. Биопленки представляют собой микробные сообщества, которые встроены в самостоятельно продуцируемую матрицу внеклеточных полимерных веществ, объединяющую бактериальные клетки в единую систему и выполняющую структурно-образующую функцию [3–5].

Основными возбудителями ортопедической инфекции являются стафилококки [6]. *Staphylococcus aureus* считается наиболее важным клиническим видом и характеризуется выраженной способностью к формированию биопленок [7]. Образование биопленки стафилококками – это один из факторов персистенции, который помогает бактериям преодолевать неблагоприятные условия окружающей среды, обеспечивая устойчивость к антибактериальным веществам и вызывая различные инфекции с хроническим течением [8]. По данным Rohde H. и соавт., способность формировать биопленки на биологических материалах – это основной фактор распространения стафилококковой инфекции. В своем исследовании авторы изучили 50 метициллинорезистентных (MRSA) и 50 метициллиночувствительных (MSSA) изолятов из ожоговых ран, все из которых образовали биопленки [7]. Закрепленные в матриксе бактерии претерпевают ряд метаболических изменений, приобретая отличия друг от друга и формируя несколько бактериальных фенотипов: клетки-персистеры, малые колонии и жизнеспособные, но некультивируемые бактерии [3]. Все это обеспечивает длительное существование патогенов в очаге инфекции, возможность распространения в другие локусы при диссеминации бактериальных биопленочных кластеров, а также защиту от действия антибиотиков, которые обладают низкой эффективностью против клеток-персистеров [9]. Однако бактериофаги (БФ) обладают большей способностью нацеливаться на пленочные бактерии, вне зависимости от их метаболического состояния. БФ индуцируют ферменты, разрушающие внеклеточный матрикс, а также способны

инфицировать клетки-персистеры, оставаясь в них бездействующими и активируясь при переходе бактерий в метаболически активное состояние [10, 11]. При этом инфицированные бактерии способствуют быстрому и эффективному размножению фагов [12].

Хроническое течение инфекционного процесса и низкая доступность для антибиотиков обуславливают необходимость поиска новых перспективных средств борьбы с перипротезной инфекцией, и значительный интерес представляет изучение антибактериального действия препарата БФ в отношении штаммов *S. aureus*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией, а также влияния фагов на процесс БПО и уже сформированную бактериальную пленку стафилококков.

Цель исследования – оценить действие комбинированного препарата БФ на БПО и сформированную биопленку *S. aureus*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией.

Материалы и методы

Всего протестировано 50 клинических изолятов *S. aureus*. Выделение культур проводили в соответствии со стандартными ручными методиками, принятыми в лаборатории в 2021 г. Материалом для исследования служили тканевые биоптаты, раневое отделяемое, синовиальная жидкость и удаленные металлоконструкции (части эндопротезов, винты, пластины, цементные спейсеры), полученные от пациентов, находящихся на стационарном лечении. Видовую идентификацию выполняли методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием системы FlexControl и программного обеспечения MBT Compass 4.1. (Bruker Daltonics, Германия), Score $\geq 2,0$. Чувствительность к антибиотикам выделенных культур определяли в соответствии с рекомендациями EUCAST (v.21) [13].

Анализ антибактериальной активности

Наличие чувствительности к препарату БФ «Секстафаг» («Микроген», Россия) определяли на мясопептонном агаре (МПА). Бактериальную взвесь (0,5 по МакФарланду) распределяли по поверхности МПА и через 10 мин. на поверхность агара дозатором наносили 10 мкл препарата БФ в дубликатах. Чашки инкубировали при 37°C в течение 18 ч. (Рисунок 1).

Антибактериальную активность в отношении эталонных штаммов *S. aureus* ATCC 29213 и *S. aureus* ATCC 43300 оценивали путем построения кинетических кривых роста. В 4 лунки 96-луночного планшета вносили

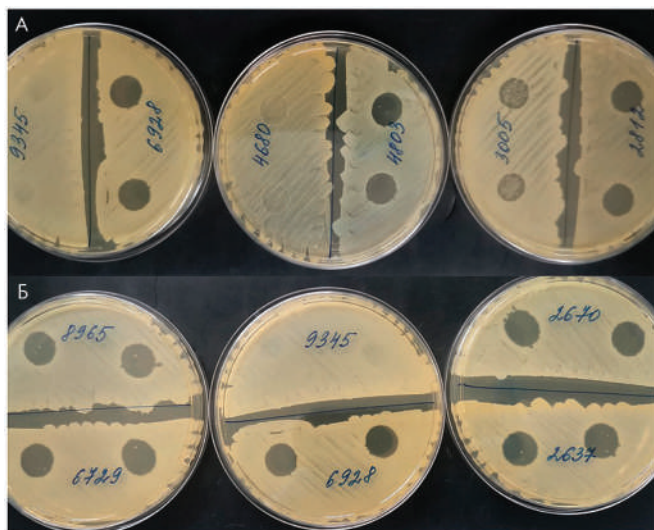


Рисунок 1. Определение чувствительности штаммов MSSA (А) и MRSA (Б) к препарату БФ

Наличие зоны подавления роста культуры на МПА в месте нанесения капли у чувствительных к фагу штаммов.

125 мкл питательной среды – бульона Мюллера – Хинтон (МХБ), 125 мкл препарата БФ и 20 мкл бактериальной взвеси (1×10^5 КОЕ/мл). В контрольные лунки вносили только МХБ и взвесь бактерий. Планшеты инкубировали при 37°C в течение 18 ч. в спектрофотометре Spectrostar NANO (BMG, Германия). Исследование состояло из 20 циклов по 3600 сек., OD_{600} . Анализ полученных кривых проводили в программе Spectrostar NANO MARS.

Оценка влияния БФ на БПО клинических штаммов

Биопленки чувствительных к БФ штаммов *S. aureus* формировали по методу O'Toole (2011) [14]. В лунки плоскдонного планшета вносили 125 мкл питательной среды, 125 мкл препарата «Секстафаг» и 20 мкл бактериальной взвеси (1×10^8 КОЕ/мл). В контрольные лунки вносили только питательную среду и взвесь бактерий. Планшеты инкубировали 24 ч. при 37°C, затем промывали, высушивали и окрашивали 0,1% раствором генцианвиолета с последующей спиртовой экстракцией. Биомассу сформированных пленок оценивали по оптической плотности (ОП) полученных экстрактов красителя при 570 нм («Spectrostar Nano»). Степень БПО определяли в соответствии с критериями Stepanovic [15]. Процентное ингибирование БПО рассчитывали, используя методику Kumari P. и соавт. [16].

Оценка влияния БФ на сформированные 24-часовые биопленки

Биопленки формировали описанным выше способом, используя только питательную среду и бактерии. Планшеты инкубировали 24 ч. при 37°C, затем промывали, высушивали и опытные лунки обрабатывали 200 мкл препарата «Секстафаг» (контрольные – пита-

тельная среда). Через 24 ч. лунки промывали, высушивали и окрашивали 0,1% раствором генцианвиолета с последующей спиртовой экстракцией. Биомассу пленок оценивали по ОП полученных экстрактов красителя при 570 нм («Spectrostar Nano»).

Статистический анализ

Полученные данные анализировали с использованием программы Statistica (версия 13). Оценку нормальности распределения значений выполняли количественным методом Шапиро – Уилка (W-тест), а наличие статистической значимости различий – при помощи t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали значения $p < 0,05$.

Результаты

Типовые штаммы *S. aureus* ATCC 29213 и *S. aureus* ATCC 43300 характеризовались чувствительностью к БФ (Рисунок 2).

ОП МХБ с взвесью бактерий в присутствии БФ была статистически значимо меньше в сравнении с контрольными показателями без добавления фаговой смеси ($p < 0,001$), и изученные типовые штаммы характеризовались чувствительностью к тестируемому препарату.

Среди изученных клинических штаммов *S. aureus* чувствительными к действию фагов были 43 из 50 изолятов (86%), включая 22 MSSA и 21 MRSA.

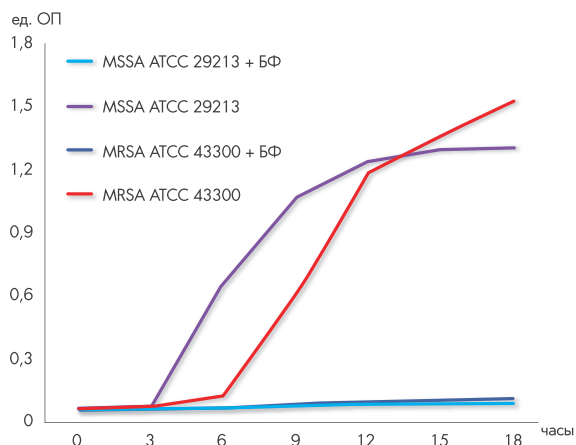
Оценка влияния БФ на БПО клинических штаммов *S. aureus*

В исследование были включены 43 фагочувствительных изолята *S. aureus*. Все тестируемые культуры характеризовались биопленкообразующей способностью различной степени выраженности: слабой – 12 (28%), умеренной – 15 (35%), сильной – 16 (37%) (Рисунок 3). Для изученных штаммов стафилококков определяли ингибирование БПО на 76% и 79% у изолятов с умеренной и сильной БПО способностью.

Для 93% штаммов *S. aureus* регистрировали замедление БПО в присутствии препарата БФ. Ингибирование формирования биопленок показано у всех протестированных штаммов MRSA ($n = 22$), при этом у 73% изолятов индекс ингибирования БПО составил более 80%, что превышало данный показатель для MSSA ($n = 21$) в 2,5 раза (Рисунок 4).

Обратная закономерность выявлена при оценке влияния препарата БФ на сформированные 24-часовые стафилококковые биопленки. Показатель деструкции составил 72% для всех тестируемых штаммов *S. aureus*. Суточные биопленки MSSA характеризовались большей чувствительностью к БФ, и у 91% изолятов регистрировали снижение биомассы пленок (Рисунок 5).

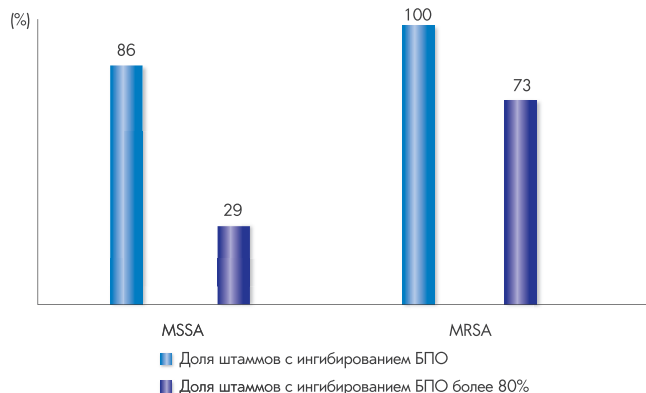
Более чем в половине случаев БФ снижали биомассу пленок, сформированных изолятами. У 57% штаммов MSSA снижение толщины биопленки в сравнении с контролем составило более 80%, при этом данный показатель был в 2 раза выше, чем у MRSA.



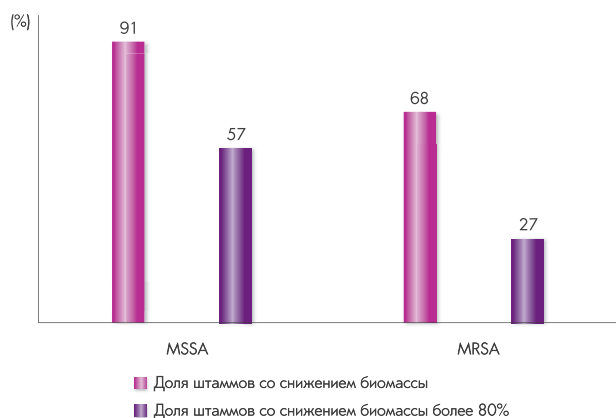
Рисунки 2. Динамика роста бактериальной биомассы *S. aureus* ATCC 29213 и *S. aureus* ATCC 43300 в течение 18 ч. в присутствии БФ и в питательной среде без препарата



Рисунки 3. Доля биомассы биопленок *S. aureus*, сформированных в присутствии БФ, в сравнении с контролем в зависимости от их биопленкообразующей способности



Рисунки 4. Доля штаммов *S. aureus* с ингибированием БПО в течение суток совместной инкубации с препаратом БФ



Рисунки 5. Доля штаммов, для которых регистрировали снижение биомассы суточных биопленок после обработки препаратом БФ в течение 24 ч.

Обсуждение

Роль бактериальных биопленок является фундаментальной при развитии хронических инфекций, особенно в присутствии имплантатов. В своей работе Sanchez C. и соавт. изучали влияние стафилококковых биопленок на функцию остеобластов и их патогенетическую роль при остеомиелите. Авторы установили, что компоненты биопленок *S. aureus* могут способствовать потере костной массы при хроническом остеомиелите за счет снижения жизнеспособности остеобластов и остеогенного потенциала, тем самым ограничивая рост новой кости, и стимулируя резорбцию кости за счет увеличения экспрессии RANKL остеобластами [17].

Недавние исследования показали роль фагов в предотвращении образования бактериальных биопленок, а также их разрушении [5, 9–11]. Взаимодействие фагов

с бактериальной клеткой на различных этапах БПО включает предотвращение бактериальной адгезии и колонизации, замедление роста и созревания биопленки, а также антибактериальное действие в отношении патогенов, приводящее к увеличению числа фагов внутри биопленки. Амплификация БФ обеспечивает распространение вирионов по водным каналам матрикса к другим непораженным фагами участкам биопленки.

González S. и соавт. подтвердили, что БФ способны проникать в биопленки, образованные штаммами с разной степенью восприимчивости к вирусам и способностью к БПО [18]. Согласно полученным нами данным, все изученные фагочувствительные штаммы стафилококков обладали способностью образовывать биопленки различной степени выраженности, что оказывало влияние на эффективность препарата БФ. Установленное незначительное снижение толщины биопленок (на 5%)

у культур со слабой степенью БПО, по-видимому, связано с минимальной разницей ОП спиртовых экстрактов красителя в опыте и контроле, обусловленной низкими значениями ОП, в отличие от штаммов с умеренной и высокой степенью БПО (на 76% и 79% соответственно). González S. и соавт. предположили, что факторами, определяющими скорость диффузии фагов в биопленках, являются количество прикрепленной биомассы, восприимчивость конкретного штамма, исходный титр фага, захват фага внеклеточным матриксом и его возможная инактивация [18].

Показано, что БФ способны экспрессировать деполимеризующие ферменты, разрушающие компоненты матрикса биопленки. Chan B. и соавт. установили, что энзимы фагового происхождения, разрушающие компоненты матрикса биопленок, как правило, не обладают токсичностью в отношении тканей животных [19]. Кроме того, данная группа ферментов обеспечивает адсорбцию БФ к бактериальной поверхности и способствует проникновению антибиотиков внутрь сформированной биопленки.

Полученные нами данные показали, что 40 из 43 фагочувствительных изолятов характеризовались снижением БПО *in vitro*, а среднее значение ингибирования БПО составило 69,3%. По-видимому, данное действие реализуется за счет прямого взаимодействия бактериальных клеток и БФ при совместной инкубации. Воронкова О.С. и соавт. продемонстрировали, что препарат стафилококкового БФ снижал темпы прироста микробной биопленки, при этом максимальный эффект реализовался при его воздействии на 48-часовую пленку [20]. В наших экспериментах показатель деструкции стафилококковых 24-часовых биопленок составил более 70%. В то же время установлены различия в действии препарата БФ на биопленки штаммов *S. aureus* в зависимости от их чувствительности к антибиотикам. Так, эффект БФ был более выражен в отношении БПО MRSA,

и все тестируемые штаммы формировали биопленки с меньшей биомассой относительно контроля. В свою очередь, MSSA демонстрировали более значимое снижение биомассы сформированных пленок под действием БФ. Полученные результаты позволяют говорить о высокой эффективности препарата БФ *in vitro* в отношении одного из главных факторов персистенции стафилококков.

Несмотря на полученные данные, существует ряд ограничений фаготерапии: строгая специфичность, индукция продукции фагонеутрализующих антител, значительно меньшее количество клинических исследований, отсутствие конкретной нормативной базы, а также правовые вопросы [11].

Заключение

По-видимому, несмотря на имеющиеся ограничения, фаготерапия может рассматриваться как перспективный метод в составе комплексного лечения ортопедических инфекций, вызванных биопленкообразующими патогенами с различным профилем устойчивости к антибиотикам. Преимуществами фаготерапии являются специфичность, самоограничение (как только бактерия разрушена, фаг перестает функционировать), эффект, ограниченный местом инфицирования, высокая безопасность, эволюция (при возникновении резистентности БФ способен мутировать вместе с бактериями), лучшая переносимость пациентом, доступность для пациентов с аллергией на антибиотики, антибиопленочная активность. Однако до настоящего времени не существует валидированного подхода к клиническому использованию терапии БФ, что требует проведения сравнительных исследований. Следует отметить, что для успешной фаготерапии необходимо определение чувствительности штамма возбудителя к определенному фагу, что обеспечит элиминацию патогена и предупреждение формирования биопленок.

Литература

- Samelis P.V., Papagrigrakis E., Sameli E., Mavrogenis A., Savvidou O., Koulouvaris P. Current concepts on the application, pharmacokinetics and complications of antibiotic-loaded cement spacers in the treatment of prosthetic joint infections. *Cureus*. 2022;14(1):e20968. DOI: 10.7759/cureus.20968
- Beck M., Christen B., Zdravkovic V., Brand C., Spoerri A. SIRIS report 2019. Annual report of the Swiss National Joint Registry. Hip and Knee 2012-2018 annual report, 2019. DOI: 10.13140/RG.2.2.15632.56323
- Gordina E.M., Bozhkova S.A. Bacterial biofilms in orthopedics: the problem and possible prospects for prevention. *RMJ*. 2021;8:29-32. Russian. (Гордина Е.М., Божкова С.А. Бактериальные биопленки в ортопедии: проблема и возможные перспективы профилактики. *РМЖ*. 2021;8:29-32.)
- Staats A., Li D., Sullivan A.C., Stoodley P. Biofilm formation in periprosthetic joint infections. *Ann Jt*. 2021;6:43. DOI: 10.21037/aoj-20-85
- Łusiak-Szelachowska M., Weber-Dąbrowska B., Górski A. Bacteriophages and lysins in biofilm control. *Viol Sin*. 2020;35:125-133. DOI: 10.1007/s12250-019-00192-3
- Bozhkova S.A., Kasimova A.R., Tikhilov R.M., Polyakova E.M., Rukina A.N., Shabanova V.V., 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. Russian. (Божкова С.А., Касимова А.Р., Тихилов Р.М., Полякова Е.М., Рукина А.Н., Шабанова В.В., Ливенцов В.Н. Неблагоприятные тенденции в этиологии ортопедической инфекции: результаты 6-летнего мониторинга структуры и резистентно-

- сти ведущих возбудителей. Травматология и ортопедия России. 2018;24(4):20-31.) DOI: 10.21823/2311-2905-2018-24-4-20-31
7. Rohde H., Burandt E.C., Siemssen N., Frommelt L., Burdelski C., Wurster S., et al. Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections. *Biomaterials*. 2007;28(9):1711-1720. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.11.046
 8. Zhang G., Zhao Y., Paramasivan S., Richter K., Morales S., Wormald P., et al. Bacteriophage effectively kills multidrug resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates from chronic rhinosinusitis patients. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2018;8:406-414. DOI: 10.1002/alr.22046
 9. Harper D.R., Parracho H., Walker J., Sharp R., Hughes G., Werthén M., et al. Bacteriophages and biofilms. *Antibiotics*. 2014;3(3):270-284. DOI: 10.3390/antibiotics3030270
 10. Patey O., McCallin S., Mazure H., Liddle M., Smithyman A., Dublanquet A. Clinical indications and compassionate use of phage therapy: personal experience and literature review with a focus on osteoarticular infections. *Viruses*. 2018;11(1):18. DOI: 10.3390/v11010018
 11. Nazarov P.A. Alternatives to antibiotics: phage lytic enzymes and phage therapy *Vestnik RGMU*. 2018;1:5-15. Russian. (Назаров. П.А. Альтернативы антибиотикам: литические ферменты бактериофагов и фаговая терапия. *Вестник РГМУ*. 2018;1:5-15.) DOI: 10.24075/brsmu.2018.002
 12. Gordillo Altamirano F.L., Barr J.J. Phage therapy in the postantibiotic era. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(2):e00066-18. DOI: 10.1128/CMR.00066-18
 13. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0, 2021. Available at: www.eucast.org. Accessed July, 2022.
 14. O'Toole G.A. Microtiter dish biofilm formation assay. *J Vis Exp*. 2011;47:2437. DOI: 10.3791/2437
 15. Stepanović S., Vuković D., Hola V., Di Bonaventura G., Djukić S., Cirković I., et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. 2007;115(8):891-899. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x
 16. Kumari P., Nath Y., Murty U.S., Ravichandiran V., Mohan U. Sortase A mediated bioconjugation of common epitopes decreases biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Front Microbiol*. 2020;11:1702. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01702
 17. Sanchez C.J. Jr, Ward C.L., Romano D.R., Hurtgen B.J., Hardy S.K., Woodbury R.L., et al. *Staphylococcus aureus* biofilms decrease osteoblast viability, inhibits osteogenic differentiation, and increases bone resorption *in vitro*. *BMC Musculoskelet Disord*. 2013;14:187. DOI: 10.1186/1471-2474-14-187
 18. González S., Fernández L., Gutiérrez D., Campelo A.B., Rodríguez A., García P. Analysis of different parameters affecting diffusion, propagation and survival of staphylophages in bacterial biofilms. *Front Microbiol*. 2018;9:2348. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02348
 19. Chan B.K., Abedon S.T. Bacteriophages and their enzymes in biofilm control. *Curr Pharm Des*. 2015;21(1):85-99. DOI: 10.2174/1381612820666140905112311
 20. Voronkova O., Vorobey E., Rozhneva I., Shevchenko T. The influence of staphylococcal bacteriophage on the process of film formation of *Staphylococcus aureus* strains. *Laboratory diagnostics. Eastern Europe*. 2019;8(1):71-77. Russian. (Воронкова О.С., Воробей Е.С., Рожнева И.Л., Шевченко Т.Н. Влияние стафилококкового бактериофага на процесс пленкообразования штаммов золотистого стафилококка. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2019;8(1):71-77.)