

Мониторинг ведущей грамотрицательной микрофлоры и антибиотикорезистентности при остеомиелите

И.В. Шипицына, Е.В. Осипова, Д.С. Леончук, А.С. Судницын

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курган, Россия

Monitoring of gram-negative bacteria and antibiotic resistance in osteomyelitis

I.V. Shipitsyna, E.V. Osipova, D.S. Leonchuk, A.S. Sudnitsyn

Iizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation

Введение. Одной из актуальных задач на сегодняшний день является необходимость мониторинга ведущей микрофлоры при различных формах остеомиелита с выявлением не только устойчивых штаммов, но и препаратов, применение которых перестало быть эффективным. **Цель.** Мониторинг ведущей грамотрицательной микрофлоры при остеомиелите и анализ антибиотикорезистентности выделенных штаммов за трехлетний период. **Результаты и обсуждение.** В спектре грамотрицательной микрофлоры в период 2017–2019 гг. лидером по частоте встречаемости были штаммы *P. aeruginosa*. Количество изолятов снизилось на 6 % по сравнению с 2017 годом. Далее следовали бактерии *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Klebsiella sp.* В 2019 году в два раза увеличилось число выделенных штаммов *K. pneumoniae*. При анализе антибиотикограмм обращает на себя внимание мультирезистентность штаммов *Acinetobacter sp.*, хотя, в сравнении с 2017 и 2018 годами общее число устойчивых штаммов снизилось. Среди прочих неферментирующих грамотрицательных бактерий увеличилось в 5,4 раза число резистентных к имипенему штаммов. Эффективность остальных тестируемых препаратов также снизилась. В отношении клинических изолятов семейства *Enterobacteriaceae* наблюдается нарастающая устойчивость к бета-лактамам антибиотикам, в том числе и к ингибиторозамещенным. Наиболее эффективным препаратом является меропенем, хотя число устойчивых штаммов значительно выросло по сравнению с предыдущими годами. Штаммы *Klebsiella sp.* характеризовались высокой устойчивостью ко всем тестируемым антибиотикам. **Заключение.** Изменение видового состава в структуре грамотрицательных микроорганизмов при остеомиелите, а также появление устойчивых штаммов к применяемым в клинике препаратам, вызывают необходимость постоянного мониторинга и отслеживания мультирезистентных клинических изолятов с целью корректировки эмпирической антибиотикотерапии. **Ключевые слова:** остеомиелит, грамотрицательные бактерии, антибиотикорезистентность, бета-лактамы антибиотиков, мультирезистентность

Introduction There is an urgent need for a surveillance system of regular monitoring of specific bacteria inducing various types of osteomyelitis to identify resistant isolates and optimize the use of antibiotics. **Objective:** monitoring of specific gram-negative bacteria and analysis of the antibiotic resistance of the strains isolated from osteomyelitis patients over a three-year period. **Results and discussion** *P. aeruginosa* was the first most common pathogen among gram-negative microorganisms isolated from the patients between 2017 and 2019. Prevalence of the isolates identified in 2019 decreased by 9.6 % as compared to 2017. Next frequently encountered clinical isolates were *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Klebsiella sp.* There was a two-fold increase in *K. pneumoniae* strains isolated in 2019. Analysis of antibiotic susceptibility testing data revealed multiresistance of the *Acinetobacter sp.* strains in 2019 despite the total decrease in resistant isolates in 2017 and 2018. Among non-fermenting gram-negative rods, the species being resistant to imipenem were shown to increase by 5.4 times. Overall antibiotic resistance was on rise. Increased antimicrobial resistance to beta-lactam antibiotics also combined with BLac inhibitors was observed in *Enterobacteriaceae* population. Meropenem was found to be effective against most bacteria with growing drug resistance observed as compared with recent years. The antibiotic resistance profiles of *Klebsiella sp.* strains appeared to be high at antimicrobial testing. **Conclusion** Diverse bacterial morphology of gram-negative species and increasing proportion of drug-resistant strains isolated in osteomyelitis cases have necessitated regular monitoring of multiresistant clinical isolates for adjustment of empirical antibiotic therapies. **Keywords:** osteomyelitis, gram-negative bacteria, antibiotic resistance, beta-lactam antibiotics, multi-drug resistance

ВВЕДЕНИЕ

Одним из важных факторов в системе мер по обеспечению эффективного лечения остеомиелита является своевременное выявление возбудителя инфекции и санация очага с последующей антибиотикотерапией [1, 2, 3]. При выборе антибиотика учитываются основные его характеристики: бактерицидность действия, создание высоких концентраций в кости и мягких тканях, возможность длительного применения, безопасность [1, 4, 5]. При лечении остеомиелита, вызванного грамотрицательными бактериями семейства *Enterobacteriaceae*, выбор «идеального» антибактериального препарата затруднителен, что связано, прежде всего, с продукцией плазмидных β-лактамаз, разрушающих пенициллины и цефалоспорины [4, 6, 7]. Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НФГОБ),

как правило, обладают мультирезистентностью [7]. Это обусловлено как первичной невосприимчивостью ко многим препаратам, так и приобретенными механизмами резистентности [4, 7, 8].

Наиболее эффективными на сегодняшний день в отношении грамотрицательных бактерий остаются карбапенемы и ингибиторзащищенные препараты [4, 9]. Однако неуклонный рост устойчивых штаммов существенно сужает спектр применяемых антибиотиков и затрудняет лечение хронических форм остеомиелита.

Необходимость мониторинга ведущей микрофлоры при различных формах остеомиелита с выявлением не только устойчивых штаммов, но и препаратов, применение которых перестало быть актуальным в связи с неэффективностью их действия, не вызывает сомнения.

Мониторинг ведущей грамотрицательной микрофлоры и антибиотикорезистентности при остеомиелите / И.В. Шипицына, Е.В. Осипова, Д.С. Леончук, А.С. Судницын // Гений ортопедии. 2020. Т. 26, № 4. С. 544-547. DOI 10.18019/1028-4427-2020-26-4-544-547

Shipitsyna I.V., Osipova E.V., Leonchuk D.S., Sudnitsyn A.S. Monitoring of gram-negative bacteria and antibiotic resistance in osteomyelitis. *Genij Ortopedii*, 2020, vol. 26, no 4, pp. 544-547. DOI 10.18019/1028-4427-2020-26-4-544-547

Цель работы: мониторинг ведущей грамотрицательной микрофлоры при остеомиелите и анализ анти-

биотикорезистентности выделенных штаммов за трех-летний период.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были штаммы грамотрицательных бактерий, выделенные при первичных посевах из ран и свищей пациентов, находившихся на лечении в отделениях Клиники гнойной остеологии ФГБУ РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова за период с 2017 по 2019 г.

Выделение чистых культур проводили рутинными методами, основываясь на практических аспектах современной клинической микробиологии. Идентифи-

кация бактерий и определение их чувствительности к используемым в клинике для лечения остеомиелита препаратам проводилась на грамотрицательных панелях NBC 44 (WalkAway-40 Plus, «Siemens»).

Полученные данные обрабатывались с помощью компьютерной программы AtteStat, версия 13.0. Рассчитывали среднее арифметическое значение и его стандартную ошибку ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

За 2017 год выделено 689 клинических изолятов грамотрицательных бактерий, среди которых 379 – штаммы неферментирующих бактерий (НФГОБ), 310 – бактерии семейства *Enterobacteriaceae*. На первом месте по частоте выделения штаммы *Psuedomonas aeruginosa* (292 изолята), далее следуют штаммы *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus sp.*, *Escherichia coli*, прочие энтеробактерии и неферментеры (табл. 1).

В 2018 году количество выделенных грамотрицательных бактерий составило 664 штамма. Удельный вес клинических изолятов *P. aeruginosa* снизился на 4,5 %, *A. baumannii* – на 19,4 %, *Proteus sp.* – на 18,6 %. Увеличился процент выделений штаммов *K. pneumoniae* на 17,9 %, прочих энтеробактерий – на 44,4 %.

В 2019 году количество выделенных из патологического материала изолятов (662) грамотрицательных бактерий не отличалось от показателей 2018 года. Изменилось процентное соотношение среди выделенных видов бактерий. Увеличился процент высеваемости штаммов *K. pneumoniae* по сравнению с 2018 годом на 39,7 %, с 2017 годом – на 48,9 %. Число выделений *Proteus sp.* выросло на 20 % в сравнении с 2018 годом.

Среди выделенных бактерий процент устойчивых к цефотаксиму штаммов *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.* по данным за 2019 год составил 73,0 % и 90,0 %, к цефтазидиму – 71,1 % и 75,2 % соответственно (табл. 2). В течение трех лет наблюдался рост числа устойчивых штаммов. Количество резистентных штаммов *Proteus sp.* и *E. coli* к препаратам цефалоспоринового ряда варьировало в пределах 40–50 %.

Ампициллин оказался неэффективным в отношении клинических изолятов энтеробактерий. Средний показатель (за три года) устойчивых штаммов составил $94,6 \pm 3,9$ %; $95,1 \pm 2,6$ %; $57,6 \pm 12,6$ %;

$80,5 \pm 5,2$ %; для штаммов *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *E. coli* и прочих энтеробактерий соответственно.

Меропенем проявлял высокую активность в отношении энтеробактерий в 2017 и 2018 годах. Так, в 2017 году препарат был эффективен в отношении 100 % клинических изолятов *E. coli*. В то время как в 2019 году число резистентных штаммов *E. coli* увеличилось до 12 %. Эффективность антибиотика снизилась на 54,1 % в отношении штаммов *Enterobacter sp.*, на 41,4 % в отношении штаммов *Klebsiella sp.*

Среди защищенных бета-лактамов антибиотиков, амоксилав не эффективен был в отношении бактерий *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, но проявлял активность в отношении штаммов *Proteus sp.* (35,1 % устойчивых штаммов). Доля резистентных штаммов *E. coli* снизилась на 25,6 % по сравнению с 2017 годом. Среди прочих энтеробактерий уровень резистентных к амоксилаву штаммов в среднем составил $65,8 \pm 3,2$ %.

В 2019 году увеличилась на 23,5 % доля резистентных к гентамицину штаммов *Enterobacter sp.*, по сравнению с 2017 годом. Количество устойчивых штаммов *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *E. coli* осталось в пределах значений 2017 года (64,2 % и 42,2 % соответственно). Среди прочих энтеробактерий число устойчивых к гентамицину штаммов сократилось на 61,9 %.

В 2017–2019 гг. снизилось на 56,9 % количество резистентных штаммов *Enterobacter sp.* к ципрофлоксацину. Наименее эффективным препаратом был в отношении бактерий *Klebsiella sp.* (87,3 % устойчивых штаммов за 2019 год).

В отношении прочих энтеробактерий в 2019 году наиболее эффективными антибактериальными препаратами были гентамицин и меропенем (10,7 % и 3,6 % устойчивых штаммов соответственно).

Таблица 1

Сводные данные о выделенных штаммах грамотрицательных бактерий по годам

Микроорганизм	Количество выделенных штаммов грамотрицательных бактерий, n		
	2017 год	2018 год	2019 год
<i>P. aeruginosa</i>	292 (42,4 %)	279 (42,0 %)	264 (39,9 %)
<i>A. baumannii</i>	72 (10,4 %)	58 (8,7 %)	53 (8,0 %)
Другие неферментирующие бактерии	15 (2,2 %)	27 (4,1 %)	21 (3,2 %)
<i>Enterobacter sp.</i>	79 (11,4 %)	82 (12,3 %)	40 (6,0 %)
<i>K. pneumoniae</i>	67 (9,8 %)	79 (11,9 %)	131 (19,8 %)
<i>Proteus sp.</i>	59 (8,7 %)	48 (7,3 %)	60 (9,1 %)
<i>E. coli</i>	57 (8,4 %)	60 (9,0 %)	60 (9,1 %)
Другие энтеробактерии	48 (6,7 %)	31 (4,7 %)	33 (4,9 %)
Всего	689 (100 %)	664 (100 %)	662 (100 %)

Таблица 2

Число резистентных штаммов энтеробактерий по годам, %

Препарат	Год	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Klebsiella sp.</i>	<i>Proteus sp.</i>	<i>E. coli</i>	Другие энтеробактерии
Амоксиклав	2017	89,1	74,2	30,2	58,1	70,1
	2018	90,7	76,6	30,6	54,1	62,9
	2019	90,0	82,0	35,1	43,2	64,3
Ампициллин	2017	91,2	93,1	77,2	84,0	75,1
	2018	97,4	97,2	42,2	73,5	80,7
	2019	95,2	95,1	53,4	72,0	85,7
Гентамицин	2017	54,3	58,2	38,1	47,2	28,1
	2018	39,7	62,9	20,5	30,4	25,0
	2019	71,0	64,2	42,2	43,3	10,7
Меропенем	2017	11,1	31,1	2,0	0,0	10,2
	2018	15,1	32,8	4,0	1,7	3,9
	2019	24,2	53,1	2,1	12,0	3,6
Цефотаксим	2017	66,2	80,1	47,0	51,0	35,2
	2018	54,7	76,3	28,6	47,6	25,0
	2019	73,0	90,0	47,6	49,4	35,7
Цефтазидим	2017	66,3	81,4	45,1	51,0	33,1
	2018	60,5	78,9	30,6	54,1	26,9
	2019	71,1	75,2	50,4	50,2	39,7
Ципрофлоксацин	2017	67,4	78,2	62,0	63,1	40,3
	2018	40,7	74,3	28,6	38,5	26,9
	2019	29,0	87,3	53,7	43,3	32,1

Среди неферментирующих грамотрицательных бактерий в 2019 году увеличилось на 24,6 % число резистентных к амикацину штаммов *P. aeruginosa* по сравнению с 2017 годом. Количество устойчивых изолятов *P. aeruginosa* к тестируемым антибактериальным препаратам варьировало от 42,7 % к амикацину до 59,2 % к цефтазидиму (за 2019 год).

В 2019 году количество устойчивых штаммов *Acinetobacter sp.* в сравнении с 2017 годом снизилось на 27,7 % к амикацину, на 19,2 % – к гентамицину,

на 13,3 % – к ципрофлоксацину. Тем не менее, число устойчивых штаммов к тестируемым препаратам было выше 50 %. Наименее эффективными антибактериальными препаратами были цефтазидим, цефепим и ципрофлоксацин.

Среди прочих НФГОБ частота встречаемости устойчивых к тестируемым антибактериальным препаратам в период 2017–2019 гг. варьировала в пределах $42,9 \pm 7,3$ %. Увеличилось на 81,3 % число штаммов, устойчивых к имипенему.

Таблица 3

Число резистентных штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий (НФГОБ) по годам, %

Препарат	Год	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter sp.</i>	Другие НФГОБ
Амикацин	2017	32,2	78,7	46,0
	2018	42,5	68,9	35,3
	2019	42,7	59,3	46,7
Гентамицин	2017	40,2	71,4	46,0
	2018	48,9	67,2	35,3
	2019	48,4	57,7	33,3
Имипенем	2017	38,4	54,2	8,1
	2018	50,7	65,6	23,5
	2019	52,3	57,5	43,4
Меропенем	2017	38,4	67,3	38,2
	2018	48,4	68,8	20,0
	2019	49,6	59,6	50,0
Цефепим	2017	51,4	78,0	31,2
	2018	58,7	81,9	17,6
	2019	58,8	72,3	50,0
Цефтазидим	2017	52,7	83,3	46,3
	2018	62,5	86,9	27,2
	2019	59,2	76,1	50,0
Ципрофлоксацин	2017	57,3	83,0	46,1
	2018	57,1	86,9	33,3
	2019	54,4	70,2	66,7

ОБСУЖДЕНИЕ

В спектре грамотрицательной микрофлоры в период 2017–2019 гг. лидером по частоте встречаемости были штаммы *P. aeruginosa*. Количество изолятов в 2019 году снизилось на 9,6 % по сравнению с 2017 годом.

Далее следовали бактерии *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Klebsiella sp.* В 2019 году в два раза выросло число выделений штаммов *K. pneumoniae*.

При анализе антибиотикограмм обращает на себя внимание мультирезистентность штаммов *Acinetobacter sp.*, хотя в сравнении с 2017 и 2018 годами число устойчивых штаммов снизилось. Среди прочих НФГОБ увеличилось в 5,4 раза число резистентных к имипенему штаммов. Эффективность остальных тестируемых препаратов также снизилась.

В отношении клинических изолятов семейства *Enterobacteriaceae* наблюдается нарастающая устойчивость к бета-лактамам антибиотикам, в том числе и к ингибиторозамещенным. Наиболее эффективным препаратом является меропенем, хотя число устойчивых штаммов значительно выросло по сравнению с предыдущими годами. Штаммы *Klebsiella sp.* характеризовались высокой устойчивостью ко всем тестируемым антибиотикам.

Согласно литературным данным и нашим наблюдениям, в последние годы возросла роль грамотрицательной микрофлоры в развитии остеомиелита, увеличилось число выделений из патологического материала *Acinetobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, все

чаще встречаются сведения о их высоком уровне антибиотикорезистентности [10, 11, 12].

В качестве базовых средств эмпирической терапии при лечении остеомиелита применяются бета-лактамы антибиотики [1, 4, 5]. Они эффективны в отношении широкого спектра микроорганизмов, однако не оказывают действия на бактерии, продуцирующие плазмидные бета-лактамазы [4]. Индуцибельная продукция бета-лактамаз грамотрицательными бактериями может усиливаться в присутствии антибиотиков либо после предшествующего приема их пациентом [4]. Для бактерий семейства *Enterobacteriaceae* типично наличие бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС). Встречаются данные о наличии БЛРС у НФГОБ, в частности у *P. aeruginosa*, *A. baumannii* [7, 13]. Имипенем и меропенем устойчивы к гидролизу бета-лактамазами [4]. Однако наблюдаемое нами повышение числа устойчивых к данным препаратам штаммов может свидетельствовать о селекции бактерий, обладающих иными механизмами резистентности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изменение видового состава в структуре грамотрицательных микроорганизмов при остеомиелите, а также появление устойчивых штаммов к применяемым в клинике препаратам, вызывают необхо-

димость постоянного мониторинга и отслеживания мультирезистентных клинических изолятов с целью корректировки эмпирической антибиотикотерапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fantoni M., Taccari F., Giovannenze F. Systemic antibiotic treatment of chronic osteomyelitis in adults // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2019. Vol. 23, No 2 Suppl. P. 258-270. DOI: 10.26355/eurrev_201904_17500. PMID: 30977893
2. Рушай А.К. Значимость факторов в выборе лечебной тактики у больных с остеомиелитом конечностей // Травма. 2016. Т. 17, № 3. С. 155-158.
3. Микулич Е.В. Современные принципы лечения хронического остеомиелита // Вестник новых медицинских технологий. 2012. Т. XIX, № 2. С. 180-184.
4. Бадиков В.Д. Микробиологические основы антимикробной терапии инфекционных заболеваний: руководство для врачей. СПб., 2005. 184 с.
5. Вишневецкий А.А., Бабак С.В. Неспецифический остеомиелит позвоночника, вызванный метициллин-резистентным стафилококком: рациональная антибиотикотерапия // Трудный пациент. 2014. Т. 12, № 3. С. 39-43.
6. Динамика распространенности и чувствительности БЛРС-продуцирующих штаммов энтеробактерий к различным антимикробным препаратам в ОРИТ России / М.В. Эйдельштейн, Л.С. Строчунский, Е.Д. Агапова, И.А. Александрова, В.Е. Афиногенов, Л.И. Ахметова, В.В. Бирюков, Н.С. Богомолова, Л.Г. Боронина, В.Н. Гугуцидзе, Л.В. Гудкова, Д.Э. Здзитовецкий, Н.А. Зубарева, В.Н. Ильина, Л.Н. Карпухина, О.И. Кречикова, В.А. Курчавов, Н.Е. Марусина, И.Г. Мултых, Г.И. Нехаева, Э.А. Ортенберг, О.В. Перьянова, С.В. Поликарпова, Л.А. Ритчик, С.М. Розанова, Н.И. Сарматова, С.В. Скальский, В.П. Строганов, Т.Н. Суборова, В.К. Тарабан, В.В. Тец, Ю.Г. Тихонов, В.Б. Туркутчиков, Н.М. Фурлетова, С.Г. Хасанова, Е.В. Щетинин // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2005. № 4. С. 323-336.
7. Демиховская Е.В. Неферментирующие бактерии в аспекте множественной антибиотикорезистентности возбудителей внутрибольничных инфекций // Болезни и антибиотики. 2012. № 1 (6). С. 89-95.
8. Неблагоприятные тенденции в этиологии ортопедической инфекции: результаты 6-летнего мониторинга структуры и резистентности ведущих возбудителей / С.А. Божкова, А.Р. Касимова, Р.М. Тихилов, Е.М. Полякова, А.Н. Рукина, В.В. Шабанова, В.Н. Ливенцов // Травматология и ортопедия России. 2018. Т. 24, № 4. С. 20-31.
9. Яковлев С.В. Госпитальные инфекции, вызванные резистентными грамотрицательными микроорганизмами: клиническое значение и современные возможности терапии // Инфекции и антимикробная терапия. 2004. Т. 6, № 4. URL: http://old.consilium-medicum.com/media/infektion/04_04/133.shtml
10. Бурнашов С.И., Шипицына И.В., Осипова Е.В. Микрофлора операционных ран и свищей у пациентов с хроническим остеомиелитом большеберцовой кости до реконструктивного лечения, при рецидиве инфекции // Клиническая лабораторная диагностика. 2019. Т. 64, № 10. С. 627-631.
11. Особенности микрофлоры длительно не заживающих гнойных ран у травматологических больных / О.А. Пшеничная, Л.З. Гриценко, В.Г. Пернакова, В.В. Мишин, М.Н. Ананьева // Вестник неотложной и восстановительной медицины. 2010. Т. 11, № 1. С. 74-76.
12. Осипова Е.В., Шипицына И.В. Информационная характеристика микробных биопленок, формируемых in vitro на поверхности покровного стекла клиническими штаммами *Klebsiella pneumoniae* // Гений ортопедии. 2018. Т. 24, № 4. С. 478-481.
13. Moultrie D., Hawker J., Cole S. Factors associated with multidrug-resistant *Acinetobacter* transmission: an integrative review of the literature // AORN J. 2011. Vol. 94, No 1. P. 27-36. DOI: 10.1016/j.aorn.2010.12.026

Рукопись поступила 29.05.2020

Сведения об авторах:

1. Шипицына Ирина Владимировна, к. б. н., ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия, Email: IVSchimik@mail.ru
2. Осипова Елена Владимировна, к. б. н., ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия
3. Леончук Дарья Сергеевна, ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия, Email: darya.leonchuk@mail.ru
4. Судницын Анатолий Сергеевич, к. м. н., ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия

Information about the authors:

1. Irina V. Shipitsyna, Ph.D. of Biological Sciences, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation, Email: IVSchimik@mail.ru
2. Elena V. Osipova, Ph.D. of Biological Sciences, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation
3. Darya S. Leonchuk, M.D., Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation, Email: darya.leonchuk@mail.ru
4. Anatoly S. Sudnitsyn, M.D., Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation