

УДК 615.464:57-083.13

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-50-54



Особенности формирования бактериальных биопленок на керамике различного состава, используемой для ортопедического эндопротезирования

Ю.Е. Скурихина¹, Е.К. Папынов², Е.А. Зайцева¹, О.О. Шичалин²¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия² Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

Цель: оценка интенсивности и особенностей образования бактериальных биопленок, формируемых неферментирующими грамотрицательными бактериями *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* на керамических образцах биокompозитного состава на основе волластонита и диоксида циркония, в том числе модифицированных добавкой биоактивной фазы гидроксиапатита (ГАП). **Материалы и методы:** исследование биопленок, сформированных на образцах биокерамики, изготовленных оригинальным авторским методом, с помощью растровой электронной микроскопии (РЭМ). Изучаемые образцы: керамика некомпозитная на основе волластонита (CaSiO_3); керамика композитная на основе волластонита в составе с ГАП (CaSiO_3 -ГАП); керамика некомпозитная на основе диоксида циркония Zr_2O_3 ; керамика на основе диоксида циркония в составе с ГАП 15 масс. % (ZrO_2 -(15 масс. % ГАП); керамика на основе диоксида циркония в составе с (ZrO_2 -(50 масс. % ГАП). Биопленки на образцах получали, размещая образцы в питательной среде с *P. aeruginosa* и *A. baumannii*. Культивирование проводили при 37 °C в течение 24 и 48 часов. Определение процента заселенности бактериями поверхности исследуемых образцов производилось методом анализа РЭМ изображений с помощью классификатора на основе локального бинарного паттерна (Local Binary Pattern, LBP). **Результаты.** При исследовании выявлена заметная разница в активности формирования и структуре бактериальной биопленки на всех исследуемых образцах. Интенсивность формирования биопленки (процент покрытия поверхности образцов керамики на основе ZrO_2), определенная с помощью классификатора на основе LBP, была следующей: керамика ZrO_2 без ГАП – 28,13%, ZrO_2 + 15 масс. % ГАП – 28,33%, ZrO_2 + 50 масс. % ГАП – 88,46%. Установлено, что на всех образцах с добавлением ГАП бактериальные биопленки образуются более активно. **Заключение.** Наличие ГАП в составе биокерамики повышает интенсивность формирования бактериальных пленок на поверхности образца. В то же время это свидетельствует о более высокой биосовместимости таких материалов. С точки зрения оценки риска возникновения инфекционного процесса при применении биокерамических материалов для замещения дефектов костной ткани наиболее оптимальным вариантом является биокерамика с добавкой не более 15 масс. % ГАП.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, биопленки, биокерамика

Поступила в редакцию 17.01.23. Получена после доработки 21.01.23, 30.01.23. Принята к публикации 04.02.23

Для цитирования: Скурихина Ю.Е., Папынов Е.К., Зайцева Е.А., Шичалин О.О. Особенности формирования бактериальных биопленок на керамике различного состава, используемой для ортопедического эндопротезирования. Тихоокеанский медицинский журнал. 2023;1:50–54. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-50-54

Для корреспонденции: Скурихина Юлия Евгеньевна – канд. мед. наук, доцент, и. о. заведующего кафедрой эпидемиологии и военной эпидемиологии Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, Владивосток, пр-т Острякова, 2); ORCID: 0000-0002-4182-5231; тел. +7 (914) 676-50-47; e-mail: eesku@mail.ru

Bacterial biofilm formation on ceramics of various composition used for orthopedic endoprosthesis

Yu.E. Skurikhina¹, E.K. Papynov², E.A. Zaitseva¹, O.O. Shichalin²¹ Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia; ² Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

Aim. To assess the intensity and characteristics of bacterial biofilms formed by non-fermenting gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* on ceramic biocomposite samples based on wollastonite and zirconia, including those modified with the bioactive phase of hydroxyapatite (HA). **Materials and methods.** Biofilms formed on bioceramic samples, prepared according to the author's original method, were examined by scanning electron microscopy (SEM). The studied samples included non-composite ceramics based on wollastonite (CaSiO_3); composite ceramics based on wollastonite with HA (CaSiO_3 -HA); non-composite ceramics based on zirconium dioxide ZrO_2 ; ceramics based on zirconia with HA 15 wt% (ZrO_2 -(15 wt % HA); ceramics based on zirconia with (ZrO_2 -(50 wt% HA). Biofilms were obtained by placing the samples in a nutrient medium with *P. aeruginosa* and *A. baumannii*. Cultivation was carried out at 37 °C for 24 and 48 h, respectively. The dynamics of bacterial growth of the surface of the studied samples was assessed by analyzing SEM images using an LBP classifier. **Results.** A noticeable difference was observed in the activity and structure of bacterial biofilm formation on all studied samples. The intensity of biofilm formation (surface coverage of ZrO_2 -based samples) determined using an LBP-based classifier was as follows: ZrO_2 ceramics without HA – 28.13%; ZrO_2 + 15 wt% HA – 28.33%; and ZrO_2 + 50 wt% HA – 88.46%. All samples with HA addition demonstrated higher susceptibility to biofilm formation. **Conclusion.** The presence of HA in the composition of bioceramics increases the intensity of biofilm formation. This also indicates a higher biocompatibility of such materials.

When selecting bioceramic materials for bone defect repair, preference should be given to materials containing no more than 15 wt% HA in the view of reducing the risk of infection.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, biofilms, bioceramics

Received 17 January 2023. Revised 21, 30 January 2023. Accepted 4 February 2023

For citation: Skurikhina Yu.E., Papynov E.K., Zaitseva E.A., Shichalin O.O. Bacterial biofilm formation on ceramics of various composition used for orthopedic endoprosthetics. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:50–54. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-50-54

For corresponding: Yulia E. Skurikhina, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Acting Head of the Department of Epidemiology and Military Epidemiology of the Pacific State Medical University (2 Ostryakov Ave., 690002, Vladivostok, Russia); ORCID: 0000-0002-4182-5231; phone: +7 (914) 676-50-47; e-mail: eesku@mail.ru

В эпоху применения различных устройств и конструкций из искусственных (синтетических) материалов с лечебной целью отмечается появление и распространение инфекций, возникающих при установке и длительном нахождении имплантатов в организме человека. В основе подобных инфекций лежит формирование биопленок условно-патогенными микроорганизмами, которое ведет к возникновению инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), в том числе тяжелых имплантат-ассоциированных инфекционных осложнений, сепсисов.

Развитие инфекций в эндопротезах в ортопедии и онкоортопедии колеблется от 1,5 до 13% [1]. Отмечено, что 15–20% первичных ревизионных операций осуществляются по поводу инфицирования протезов [2]. Причиной развития осложнений в большинстве случаев является интраоперационное инфицирование, реже гематогенное, из-за инфекций кожного покрова, пневмонии, стоматологических процедур, инвазивных манипуляций, инфекций мочеполовой системы [3].

Материалы, из которых изготавливаются современные имплантаты, применяемые в ортопедической хирургии, обладают физико-химическими и механическими характеристиками, определяющими химическую инертность, термостабильность, пластичность, микроструктурное разнообразие и конструкционную прочность. Также учитываются биосовместимые с живым организмом свойства этих систем, основанные на отсутствии токсичности, биоинертности или биоактивности и биорезистивности. Важно не только влияние биоматериалов на организм пациента, но и такой аспект, как формирование на этих материалах биопленок, образуемых возбудителями ИСМП. Риск развития инфекции в области протеза и интенсивность формирования биопленки зависит от химического состава и микроструктуры (пористость, кристалличность, рельеф поверхности) материала [4].

Керамические материалы для костных имплантатов вызывают большой интерес вследствие растущих запросов ортопедической хирургии. Инертность к биологической среде и высокие прочностные характеристики керамики позволяют успешно использовать ее для изготовления пористых конструкций, имплантируемых в организм [5]. В качестве таких имплантатов может выступать биоинертная керамика, которая исключает нежелательные химические реакции с тканями и межтканевыми жидкостями в организме [6]. Такая керамика может использоваться в качестве искусственных

протезов, для которых неприемлема даже частичная резорбция, например при изготовлении протезов зубов или тел позвонков. Для придания или повышения биоактивных свойств в керамику вводят резорбируемую фазу, в качестве которой может выступать гидроксипатит (ГАП) – компонент, который наиболее близок к минеральной составляющей костной ткани [7]. В этом случае материалы наделяются эффективными биоактивными свойствами, такими как отсутствие негативных реакций со стороны иммунной системы, быстрое срастание с костной тканью, стимулирование остеосинтеза и др. [8]. Пористость материалов с разным составом также различная, от нее зависит как прочность материала, так и глубина прорастания биологической ткани в имплантат. Но эти же свойства биокерамики влияют и на другой аспект – интенсивность образования бактериальной биопленки на ее поверхности.

Цель работы – оценить интенсивность формирования бактериальных пленок *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* на поверхности керамических образцов биокompозитного состава на основе волластонита и диоксида циркония, в том числе модифицированных добавкой биоактивной фазы гидроксипатита.

Материалы и методы

Исследовались следующие виды синтетической биокерамики: 1) керамика некомпозитная на основе волластонита (CaSiO_3); 2) керамика композитная на основе волластонита в составе с ГАП (CaSiO_3 -ГАП); 3) керамика некомпозитная на основе диоксида циркония Zr_2O_3 ; 4) керамика на основе диоксида циркония в составе с ГАП 15 масс. % (ZrO_2 -(15 масс. % ГАП); 5) керамика на основе диоксида циркония в составе с (ZrO_2 -(50 масс. % ГАП). Образцы были изготовлены согласно оригинальным авторским методам, описанным и изученным в работах [9, 10].

Образцы имели цилиндрическую форму диаметром 15,3 мм и высотой 4–5 мм.

Для оценки интенсивности формирования бактериальной биопленки на образцах использовали *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, штаммы получены и идентифицированы в бактериологической лаборатории многопрофильного стационара, г. Владивосток.

Бактериальные биопленки на исследуемых образцах получали двумя способами: 1) образцы помещали в жидкую питательную среду (МПБ, Оболенск, Россия)

с *P. aeruginosa* или *A. baumannii* (0,5 стандарт McFarland). Культивирование проводили при 37 °C в течение 24 и 48 часов; 2) образцы окунали в жидкую питательную среду (МПБ, Оболенск, Россия) с *P. aeruginosa* или *A. baumannii* (0,5 стандарт McFarland) на 10 минут, после этого их размещали в чашках Петри на поверхности 5% кровяного агар, засеянного этими же микроорганизмами. Культивирование проводили при 37 °C в течение 24 и 48 часов.

Фиксация биопленки на образцах проводилась путем промывки в 4% формальдегиде с 1% раствором фосфатного буфера и последующим воздействием 1% раствором осмия тетраоксида в течение 1 часа. Обезвоживание проводили с помощью последовательной обработки в этаноле различной концентрации и при соответствующей экспозиции (30% – 10 минут; 50% – 10 минут; 70% – 10 минут; 96% – 10 минут; 100% – 20 минут), а затем в ацетоне 20 минут.

Морфологию сформированных биопленок изучали с помощью растровой электронной микроскопии (РЭМ) на приборе Carl Zeiss Ultra 55 (Германия) с катодом на полевой эмиссии при ускоряющих напряжениях 1–5 kV и токе пучка $I \approx 100$ pA.

Определение процента заселенности бактериями поверхности исследуемых керамик производилось с помощью метода анализа РЭМ-изображений. Использовался классификатор на основе локального бинарного паттерна (Local Binary Pattern, LBP), который задает представление одного пикселя через сравнение с 8 его соседями по яркости. Имеется черно-белое изображение, где каждый пиксель характеризуется тройкой чисел, определяющих оттенок серого цвета. Если центральный пиксель характеризуется меньшей яркостью, чем сосед, то данной ячейке присваивается 1, в противном случае – 0. Затем последовательность единиц и нулей объединяется в бинарное число, которое ставится в соответствие центральному пикселю (рис. 1). Таким образом, на первом этапе каждому пикселю рассматриваемого изображения ставилось в соответствие 8-значное бинарное число. На следующем этапе производилось обучение модели посредством выделения областей, соответствующих одному из 3 типов текстур: «образец», «бактерия», «пора». В рамках обучения частоты каждого

значения LBP, изначально равные нулю для каждой текстуры, повышались на 1, если они попали в выделенную область. Затем частоты нормализовались и окончательно получали для каждого значения LBP вероятности быть принадлежащим к определенному типу текстур. Далее осуществлялась текстуризация изображения случайным образом с вероятностью, пропорциональной частоте текстуры для значения LBP рассматриваемого пикселя. В результате получалась грубая текстурированная фотография. После этого для каждого пикселя определялось число соседей, принадлежащих определенной текстуре, и, в случае преобладания определенного типа, рассматриваемый пиксель присваивался к новой текстуре, в противном случае оставалось без изменений. Последняя процедура повторялась до достижения равновесной текстуризации. Процент заселенности бактериями поверхности определялся по отношению числа пикселей, принадлежащих текстуре «бактерия», к общему числу пикселей.

Описанная процедура применялась на 10 РЭМ-изображениях, полученных для каждого из образцов керамики, причем обучение модели проводилось на одной из фотографий и повторялось заново при переходе к другой керамике.

Результаты исследования

При исследовании выявлена заметная разница в интенсивности формирования и структуре бактериальной биопленки в исследуемых образцах.

На волластонитовой керамике без добавления ГАП (рис. 2а, а*) преимущественно наблюдаются отдельно расположенные бактериальные клетки. Присутствуют отдельные и редко сосредоточенные по поверхности образцов небольшие плотные участки сформированной биопленки. Бактерии (как отдельные, так и в составе биопленки) покрыты плотным слоем внеклеточного полимерного матрикса, защищающего их от воздействия негативных факторов окружающей среды.

На керамике композитного состава CaSiO_3 -ГАП (рис. 2б, б*) слой бактериальной биопленки гораздо более выражен. Он толстый и объемный, содержит большое количество матрикса, хорошо видны F-пили (обозначены на рис. 2б* стрелками). Слой представляется достаточно толстым и объемным за счет структуры матрикса и отпочковывающихся планктонных форм бактерий (рис. 3), что является признаком зрелости биопленки и активности ее распространения, а также косвенным подтверждением повышенной биосовместимости данного образца по сравнению с керамикой, не содержащей ГАП.

На образцах 3, 4 и 5 (на основе оксида циркония) отчетливо видна зрелая сформированная биопленка, однако процесс ее формирования, по всей видимости, зависел от состава исследуемых образцов (рис. 4).

Интенсивность формирования биопленки (процент покрытия поверхности исследуемых керамик), определенная с помощью классификатора на основе

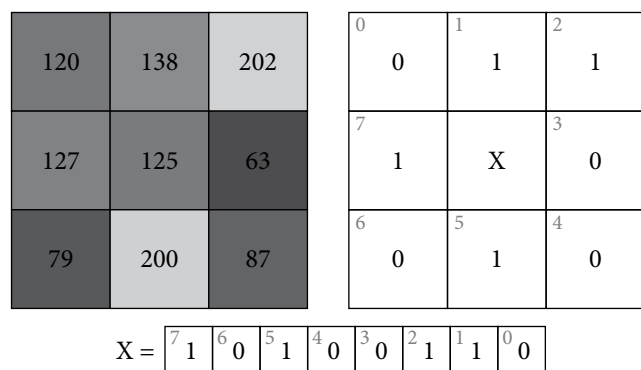


Рис. 1. Схема построения представления пикселя посредством LBP.

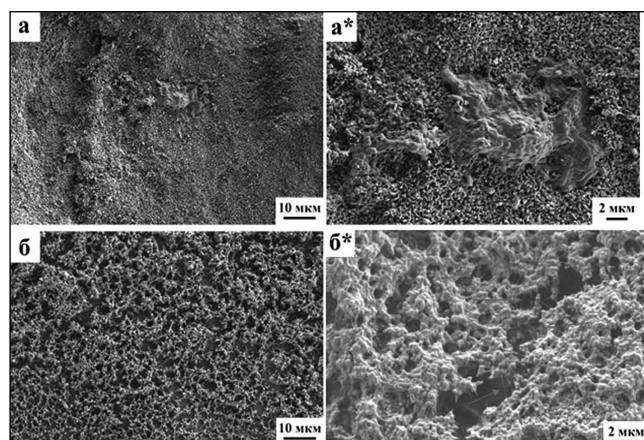


Рис. 2. РЭМ изображения бактериальной пленки на исследуемых керамических образцах волластонита CaSiO_3 : а – увеличение 5×10^3 , а* – увеличение $\times 10^4$ – образец 1 (без ГАП); б – увеличение 5×10^3 , б* – увеличение $\times 10^4$ – образец 2 (с ГАП). Стрелками показаны F-пили.

локального бинарного паттерна, была следующая: керамика ZrO_2 без ГАП – 28,13%, ZrO_2 + 15 масс. % ГАП – 28,33%, ZrO_2 + 50 масс. % ГАП – 88,46%.

В составе биопленок на всех образцах хорошо выражен внеклеточный полимерный матрикс, который покрывает и окружает бактериальные клетки. Он обеспечивает защиту бактерий от воздействия негативных факторов окружающей среды, препятствует проникновению антибиотиков, а в условиях живого организма защищает от факторов иммунной системы.

На образцах без ГАП и с 15 масс. % ГАП биопленка формируется менее интенсивно. Она гораздо более тонкая, бактериальный слой не сплошной, видны «просветы» в матриксе, он представляется более рыхлым (рис. 4 а, б).

На образце с 50 масс. % добавкой ГАП биопленка сформирована наиболее интенсивно, покрывает поверхность образца толстым слоем (рис. 4 в, в*).

Обсуждение полученных данных

Для оценки интенсивности формирования бактериальной биопленки на материалах, используемых в ортопедической хирургии, нами предложено использовать одни из ключевых возбудителей ИСМП – *P. aeruginosa* и *A. baumannii*. Это неферментирующие грамотрицательные бактерии, широко распространенные в окружающей среде, хорошо сохраняющиеся и размножающиеся, в том числе и в госпитальных условиях. Они имеют широкий спектр факторов вирулентности, которые обеспечивают способность к инвазии и персистенции в тканях, цитотоксическому эффекту, стимуляции генерализованной воспалительной реакции и очень быстро формируют биопленки [11]. Помимо локализации на слизистых оболочках и коже пациентов они обладают выраженной адгезивной способностью к имплантируемым устройствам (катетеры, эндотрахеальные трубки, дренажи и др.). Частота ИСМП, вызываемых *P. aeruginosa*, составляет до 30%

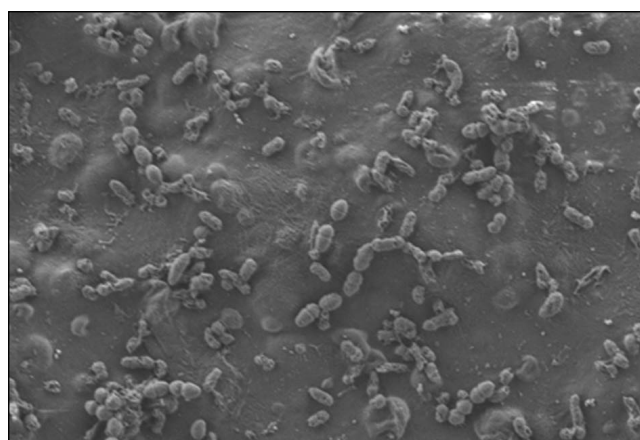


Рис. 3. Биопленка, сформированная на поверхности образца 2 (CaSiO_3 -ГАП), РЭМ, увеличение $\times 10^4$.

[12], а *A. baumannii* – до 10% [13], и она постоянно растет. Это наиболее актуальные возбудители всех ИСМП, кроме ангиогенных [14, 15].

Данное исследование направлено на расширение списка материалов, отвечающих различным задачам современной медицины и максимально удовлетворяющих требованиям конкретного клинического случая. Изучались различные виды искусственных материалов, создаваемых и используемых для применения в ортопедической хирургии в качестве замены натуральной кости.

В результате проведенного исследования отмечено, что наличие ГАП в составе композитной биокерамики повышает интенсивность формирования бактериальных пленок на поверхности образца. Более толстая и активно формирующаяся биопленка косвенно свидетельствует о более высокой биосовместимости таких материалов с тканями пациента. Однако следует учитывать, что при этом также возрастает риск развития инфекционного процесса, что требует дополнительной процедуры противобактериальной обработки или повышении антибактериальных свойств изделий из таких композитных материалов.

С точки зрения оценки риска возникновения инфекционного процесса при применении такого вида материалов для замещения дефектов костной ткани, на данном этапе наиболее оптимальным является керамика на основе диоксида циркония с добавкой 15 масс. % ГАП.

Заключение

Данное исследование процесса формирования и структуры биопленок на синтетических биокерамических материалах, используемых для создания костных имплантатов, которые широко применяются в ортопедической хирургии и стоматологии, показало, что наиболее оптимальным вариантом среди исследуемых образцов является биокерамика с добавлением гидроксиапатита не более 15 масс. %. При увеличении количества гидроксиапатита в составе биокерамики возрастает риск развития инфекционного процесса, что требует дополнительной процедуры антибактериальной обработки или повышения антибактериальных

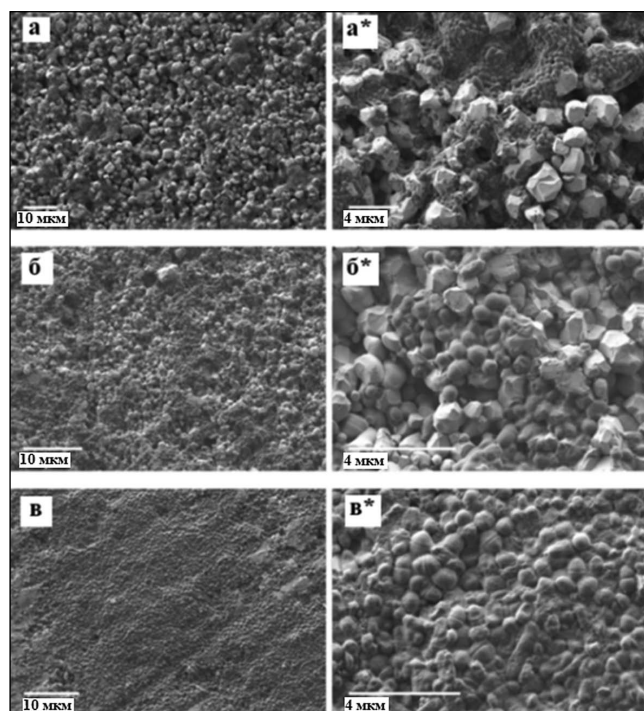


Рис. 4. РЭМ изображения бактериальной пленки на образцах на основе диоксида циркония: а – увеличение 5×10^3 , а* – увеличение $\times 10^4$ – образец 3 (без ГАП); б – увеличение 5×10^3 , б* – увеличение $\times 10^4$ – образец 4 (15 масс.% ГАП); в – увеличение 5×10^3 , в* – увеличение $\times 10^4$ – образец 5 (50 масс.% ГАП).

свойств изделий из таких композитных материалов. Таким образом, изучение процесса формирования и структуры биопленок – важный раздел дальнейшей работы по разработке оптимального состава биокерамики для создания костных имплантатов.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: исследование по синтезу биоматериалов выполнено в рамках проекта Российского научного фонда №18-73-10107.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: ЮЕС, ПЕК

Сбор и обработка материала: ЮЕС, ПЕК, ШОО

Написание текста: ЮЕС, ПЕК, ЗЕА

Редактирование: ЗЕА.

Литература / References

1. Шаталов А.М., Тепляков В.В. Эндопротезирование длинных костей и суставов у онкологических больных. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2012;1(2):109–13. [Shatalov AM, Teplyakov VV. Endoprosthetic replacement of long bones and joints in cancer patients. *P.A. Herzen Journal of Oncology*. 2012;1(2):109–13. (In Russ.)].
2. Петухова И.Н., Соколовский А.В., Григорьевская З.В., Багирова Н.С., Терещенко И.В., Варлан Г.В., Агинова В.В., Дмитриева Н.В. Инфекции, связанные с установкой инородных материалов (протезы, сетки, импланты). *Злокачественные опухоли*. 2017;(3s1):57–60. [Petukhova IN, Sokolovsky AV, Grigorievskaya ZV, Bagirova NS, Tereshchenko IV, Varlan GV, Aginova VV, Dmitrieva NV. Infections associated with the installation of foreign materials (prostheses, meshes, implants). *Malignant tumors*. 2017;(3s1):57–60. (In Russ.)]. doi: 10.18027/2224-5057-2017-3s1-57-60
3. Monisha SP, Suresh A. A comprehensive review of diagnosis and management of prosthetic joint infections in the absence of positive cultures. *J Infect Public Health*. 2016;9:545–56. doi: 10.1016/j.jiph.2015.12.001
4. Arciola CR, Campoccia D, Montanaro L. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(7):397–409. doi: 10.1038/s41579-018-0019-y
5. Afzal A. Implantable zirconia bioceramics for bone repair and replacement: a chronological review. *Mater. Express*. 2014;4:1–12. doi: 10.1166/mex.2014.1148
6. Sprio S, Tampieri A, Dapporto M, Iafisco M, Montesi M. Bioceramics in regenerative medicine. *Encycl. Mater. Tech. Ceram. Glas*. 2021;3(3):601–13. doi: 10.1016/B978-0-12-803581-8.12091-0
7. Stevens MM. Biomaterials for bone tissue engineering. *Mater. Today*. 2008;11:18–25. doi: 10.1016/S1369-7021(08)70086-5
8. Quan R, Tang Y, Huang Z, Xu J, Wei X, Yang D. Effects of HA/ZrO₂ composite powder on mesenchymal stem cells proliferation and osteogenic differentiation. *Ceram. Int*. 2012;38:6621–8. doi: 10.1016/j.ceramint.2012.05.048
9. Papynov EK, Apanasevich VI, Plekhova NG, Zinoviev SV, Kotciurbii EA, Shichalin OO, Modin EB, Korshunova OV, Afonin IS, Evdokimov IO. Rabbit's cranial defect regeneration using a fine-grained ZrO₂-(15 Wt%)HAp ceramic implant fabricated by SPS-RS technique. *Ceram. Int*. 2022;48:13817–25. doi: 10.1016/j.ceramint.2022.01.263
10. Papynov EK, Shichalin OO, Apanasevich VI, Afonin IS, Evdokimov IO, Mayorov VY, Portnyagin AS, Agafonova IG, Skurikhina YE, Medkov MA. Synthetic CaSiO₃ sol-gel powder and SPS ceramic derivatives: “in vivo” toxicity assessment. *Prog. Nat. Sci. Mater. Int*. 2019;29(5):569–75. doi: 10.1016/j.pnsc.2019.07.004
11. Сотников А.В., Левашов А.С., Салтанов А.И. Синегнойная инфекция и возможности ее терапии (обзор литературы). *Вестник интенсивной терапии*. 2013;3:29–36. [Sotnikov AV, Levashov AS, Saltanov AI. *Pseudomonas aeruginosa* infection and possibilities of its therapy (literature review). *Annals of Critical Care*. 2013;3:29–36. (In Russ.)].
12. Zhang Y, Li Y, Zeng J, Chang Y, Han S, Zhao J. Risk factors for mortality of in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in China: impact of resistance profile in the mortality. *Infect. Drug Resist*. 2020;13:4115–23. doi: 10.2147/IDR.S268744
13. Шмакова М.А. Бактерии рода *Acinetobacter* как внутрибольничные патогены: эпидемиологические особенности. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019;4(1):66–72. [Shmakova MA. Bacteria of the *Acinetobacter* genus as nosocomial pathogens: epidemiological features. *Fundamental and clinical medicine*. 2019;4(1):66–72. (In Russ.)]. doi: 10.23946/2500-0764-2019-4-1-66-72
14. Van Duijn PJ, Dautzenberg MJD, Oostdijk EAN. Recent trends in antibiotic resistance in European ICUs. *Curr. Opin. Crit. Care*. 2011;17:658–65. doi: 10.1097/MCC.0b013e32834c9d87
15. Фомичева Т. Д., Туркутюков В. Б., Сотниченко С. А., Скурихина Ю.Е. Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за гнойно-септическими инфекциями при ожоговой травме. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2018;3(73):72–4. [Fomicheva TD, Turkutuykov VB, Sotnichenko SA, Skurikhina YE. Microbiological monitoring in the system of epidemiological surveillance of purulent-septic infections in burn injuries. *Pacific Medical Journal*. 2018;3(73):72–4. (In Russ.)]. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.3.72-74