

УДК 617-001.17-06:616.98:579.22

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА «ПОГРАНИЧНОЙ» ОЖОГОВОЙ РАНЫ В РАЗНЫЕ ФАЗЫ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА

К.В. Митряшов¹, С.В. Охотина², П.А. Грибан², Е.В. Шмагунова¹, Г.И. Туркутукочкава¹, Т.Н. Обьденникова², А.Ю. Киселев³, В.В. Усов³

¹ Дальневосточный окружной медицинский центр Федерального медико-биологического агентства России (690022 г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 161), ² Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), ³ Школа биомедицины Дальневосточного федерального университета (690950, г. Владивосток, ул. Суханова, 8)

Ключевые слова: ожог, микрофлора, монокультура, микробные ассоциации.

FEATURES OF THE MICROBIAL LANDSCAPE 'BORDER' OF BURN WOUNDS IN DIFFERENT PHASES OF WOUND PROCESS

K.V. Mityrashov¹, S.V. Okhotina², P.A. Griban², E.V. Shmagunova¹, G.I. Turkutukochkava¹, T.N. Obydennikova², A.Yu. Kiselev³, V.V. Usov³
¹ Far Eastern Regional Center of Federal Medical-Biological Agency of Russia (161 100th anniv. of Vladivostok Ave. 690022 Russian Federation), ² Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950 Russian Federation), ³ School of Biomedicine Far Eastern Federal University (8 Sukhanova St. Vladivostok 690950 Russian Federation)

Background. The research objective is an analysis of the species composition of bacterial flora of 'border' burn wounds in the different phases of wound process.

Methods. It was conducted the analysis of 571 studies results of microbiological composition of bacterial flora in surface burns in 509 patients. Time of biomaterial sampling ranged from 1 to 60 days after injury. Species identification and antibiotic sensitivity of the isolated microorganisms was determined spectrophotometrically.

Results. It was found 50 species of pathogenic and conditionally pathogenic flora in traumatic discharge. Microbial wounds landscape was varied and presented to gram-positive and gram-negative flora, but the dominant species were *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aureginosa*. Dissemination of conditionally pathogenic flora to the surrounding skin on the surface of the deified is the main route of contamination of wounds in the first days after the injury. When analyzing antibiotic grams strains of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus*, sown in the first day, were susceptible to methicillin, oxacillin, cefazolin, and micro-organisms found in the later periods were resistant to these antibiotics.

Conclusions. Saprophytic and conditionally pathogenic flora, often represented by associations, less monoculture prevails in the first phase of wound process in the 'border' burn wound. Methicillin-resistant staphylococci, gram-negative bacteria and *P. aureginosa* *Acinetobacter baumannii* dominates, and the amount of associative flora increases at the second and third phases of wound process in the 'border' burn wound. Most often in the 'boundary' burn wounds in the second and third phases of wound healing are encountered *S. aureus*, *P. aureginosa* and *A. baumannii* – 65,8 % of all pathogens. These pathogens are the most clinically important in the regeneration phase and the epithelialization.

Keywords: burn wound, bacterial flora, monoculture, microbial associations.

Pacific Medical Journal, 2016, No. 1, p. 59–62.

Все ожоговые раны бывают либо инфицированными первично, либо обсемененными микрофлорой в первые часы после травмы [7, 10]. Однако эта микрофлора не всегда является возбудителем инфекционного процесса [1, 5]. Исследования многих авторов показывают,

что в течение короткого промежутка времени после травмы ожоговые раны колонизируются госпитальной микрофлорой, активность которой определяет развитие инфекционных осложнений и оказывает значимое влияние на процесс репарации и используемые раневые покрытия [8, 13, 15]. Бактериальные ферменты способствуют окислительной деструкции раневых покрытий, ускоряя этот процесс [4].

Активная хирургическая тактика, которая лежит в основе лечения «пограничных» ожогов, направленная на одномоментное удаление большей части ожогового струпа и основной массы некротических тканей, позволяет значительно снизить микробную обсемененность, но не ликвидирует ее полностью [11, 12].

Под воздействием различных факторов бактериальная экосистема ожоговых стационаров постоянно меняется, снижается чувствительность микроорганизмов к отдельным антибиотикам, дезинфектантам и средствам антисептики. Данные постоянного мониторинга используются здесь для рационального выбора антибиотиков и дезинфицирующих средств, а также служат основой для создания эффективных программ профилактики внутрибольничной инфекции, для выработки стратегии и тактики антибактериальной терапии и подбора препаратов для местного консервативного лечения [3, 6, 9, 14].

Цель настоящего исследования – анализ видового состава микрофлоры «пограничных» ожоговых ран в разные фазы раневого процесса.

Материал и методы. Проанализированы результаты 571 микробиологической пробы с поверхности ожоговых ран у 509 пациентов в возрасте от 15 до 60 лет с ожогами общей площадью от 1 до 30 % (в среднем – 9,7 %) поверхности тела и глубиной поражения IIIA–IIIB степени, находившихся на стационарном лечении в ожоговом отделении Дальневосточного окружного медицинского центра ФМБА России в 2013–2015 гг. Бактериологическое исследование выполнили однократно в 457, двукратно – в 44, трехкратно – в 6 и четырехкратно – в 2 случаях.

Площадь ожоговых ран определяли по правилу «ладони», глубину ожога – по наличию характерных макроскопических изменений в ране, наличию участков сформировавшейся грануляционной ткани на площади не более 50 % от общей площади ран, по преобладанию

островковой эпителизации и сроков самостоятельного заживления ран не менее 16 дней. В работе использована классификация фаз раневого процесса М.И. Кузина (1990). Средние сроки перехода одной фазы в другую оценивались на основании личного опыта и данных литературы [2].

Исследование раневого отделяемого проводили согласно приказу МЗ СССР от 22.04.1985 г. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях ЛПУ».

Видовая идентификация и антибиотикограммы выделенных микроорганизмов проводились в бактериологической лаборатории ДВОМЦ ФМБА России на микробиологическом анализаторе Microscan AutoScan 4 (Siemens, США) и панелей Rapid Breakpoint Combo Panel.

Индекс встречаемости (С) представителей отдельных видов рассчитывали по формуле:

$$C = p(\text{бак}) \times 100 \% : P(\text{общ.}),$$

где $p(\text{бак.})$ – число проб, в которых обнаружены бактерии данного вида, $P(\text{общ.})$ – общее число проанализированных проб. Обработку полученных данных проводили с помощью методов вариационной статистики.

Результаты исследования. Рост микрофлоры был зарегистрирован в 488 пробах (88,5%). В 348 случаях был выявлен один вид микроорганизмов (48%), в 128 – ассоциация двух, в 11 – ассоциация трех и в 1 – ассоциация четырех видов микроорганизмов. Общий удельный вес микробных ассоциаций составил 44,8%.

В раневом отделяемом было обнаружено 50 видов патогенной и условно-патогенной флоры: 12 видов рода *Staphylococcus* (*aureus*, *epidermidis*, *haemolyticus*, *auricularis*, *hominis*, *sciuri*, *schleiferi*, *simulans*, *hyicus*, *intermedius*, *saprophiticus*, *xylosus*), 8 видов рода *Streptococcus* (*agalactiae*, *dysgalactiae*, *hemolyticus*, *milleri*, *pyogenes*, *viridans*, *enterococcus faecalis u faecium*), 5 видов рода *Pseudomonas* (*aeruginosa*, *fluorescens*, *oryzihabitan*, *stutzeri*, *mosselii*), 4 вида рода *Enterobacter* (*aerogenes*, *faecalis*, *cloacae*, *agglomerans*), 3 вида рода *Klebsiella* (*oxytoca*, *planticola*, *pneumoniae*), по 3 вида родов *Proteus* (*mirabilis*, *vulgaris*, *penneri*) и *Cedecea* (*davisae*, *neteri*, *lapergei*) и 2 вида рода *Acinetobacter* (*baumannii*, *lwoffii*). Также были обнаружены *Yersinia pseudotuberculosis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Serratia plymuthica*, *Providencia stuartii*, *Morganella morganii*, *Escherichia coli*, *Chryseobacterium meningosepticum*, *Burkholderia cepacia*, *Empedobacter brevis*, *Achromobacter xylosoxidans*.

В общей структуре микрофлоры доля *Staphylococcus* составила 56,9% (*aureus* – 33,4%, *epidermidis* – 11,5%, *haemolyticus* – 8,6%, остальные – 3,4%), *Pseudomonas* – 13,6% (*aeruginosa* – 12,6%, *Pseudomonas* spp. – 1%), *Enterobacter* – 10,4% (*aerogenes* – 3,1%, остальные примерно в равных долях – 3,3%, *Enterococcus* – 4,2%), *Acinetobacter* – 9% (*Acinetobacter baumannii* – 8,7%, *Acinetobacter* spp. – 0,3%), *E. coli* – 1,9%, *Proteus* spp. – 1,6%, *Klebsiella* spp. – 1,6%. Доля остальных микроорганизмов составила чуть более 5%.

Таким образом, выявлены пять наиболее часто встречающихся микроорганизмов – возбудителей раневой инфекции: *S. aureus* (37,5%), *P. aeruginosa* (14,2%), *S. epidermidis* (12,9%), *A. baumannii* (9,8%), *S. haemolyticus* (9,6%), вероятность выделения – 84%.

При анализе микробных ассоциаций зарегистрировано, что в них наиболее часто встречались *Staphylococcus* spp. (82,2%) и *Pseudomonas* spp. (42,2%). При этом ассоциация *Staphylococcus* spp. и *Pseudomonas* spp. обнаружена в 27,2%, *Staphylococcus* spp. и *Acinetobacter* spp. – в 24,3%, *Pseudomonas* spp. и *Acinetobacter* spp. – 5% случаев. Сочетание *Staphylococcus* spp. с другими микроорганизмами было отмечено в 30,7%, а *Pseudomonas* spp. с другой микрофлорой – в 15% проб.

В первые пять суток после травмы микрофлора была обнаружена в 80,2% проб, а спустя 6 суток и более – уже в 92,8% проб. *S. aureus* встречался примерно одинаково, как в фазу воспаления, так и в фазу регенерации (31 и 35,5%, соответственно). Другие виды стафилококка (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus* spp.) в первые 5 суток после ожога встречались в 24,5% случаев, что 2,5 раза чаще, чем спустя 6 суток и более. В 69,4% наблюдений эта микрофлора была представлена монокультурой.

Вторая фаза раневого процесса отличалась увеличением удельного веса *P. aeruginosa* с 7,3 до 18,4%, а *A. baumannii* – с 6 до 11,9%. При этом снижался удельный вес микрофлоры кишечной группы (*Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Cedecea* spp., *E. coli*) – с 44,8 до 19,5%. Аналогичная тенденция отмечена при анализе состава микробных ассоциаций (табл.).

Таблица

Динамика микробного пейзажа «пограничной» ожоговой раны в зависимости от фазы раневого процесса

Результат исследования	Количество наблюдений			
	1–5-е сутки		6 суток и более	
	абс.	%	абс.	%
Роста нет	66	19,8	17	7,2
Монокультура	207	62,0	141	59,5
Ассоциации	61	18,2	79	33,3
<i>Всего:</i>	334	100,0	237	100,0
<i>S. aureus</i>	104	31,4	110	35,5
<i>S. epidermidis</i>	54	16,5	20	6,5
<i>S. haemolyticus</i>	45	13,6	10	3,2
<i>Staphylococcus</i> spp.	15	4,5	7	2,3
<i>P. aeruginosa</i>	24	7,3	57	18,4
<i>A. baumannii</i>	20	6,0	37	11,9
<i>Enterococcus</i> spp.	22	6,6	7	2,3
<i>Enterobacter</i> spp.	22	6,6	16	5,2
<i>Streptococcus</i> spp.	5	1,5	2	0,6
<i>E. coli</i>	5	1,5	7	2,3
Другие	15	4,5	37	11,8
<i>Всего:</i>	331	100,0	310	100,0

Штаммы стафилококка, высеваемые в 1-е сутки, были чувствительны практически ко всем антибиотикам, в том числе к метициллину, оксациллину и цефазолину, что может свидетельствовать об их принадлежности к нормальной микрофлоре пациентов, а также об условно-патогенном характере данных микроорганизмов. Как правило, контаминация ожоговой раны в 1-е сутки раневого процесса происходит за счет диссеминации условно-патогенной флоры с неповрежденной кожи на пораженную поверхность. В более поздние сроки уже 37,4 % культур, а через 6 дней – 80 % *S. aureus* были метициллин-резистентными.

Обсуждение полученных данных. Микробный пейзаж «пограничных» ожоговых ран разнообразен, и представлен как грамположительной, так и грамотрицательной флорой. При этом, доминирующими видами остаются *S. aureus* и *P. aeruginosa*, на их долю приходится 46 % всех выделенных бактерий, а в монокультуре их присутствие возрастает до 60,9 %. Эти два возбудителя являются членами 97,1 % всех микробных ассоциаций. Микст-инфекция в «пограничной» ожоговой ране была представлена *S. aureus* и *P. aeruginosa* в 27,2 % случаев, сочетанием одного из этих возбудителей с *A. baumannii* – 29,3 % или с различными видами родов *Streptococcus* и *Enterobacter* – 25,7 % случаев.

Наши исследования свидетельствуют, что в первые 5 суток в ожоговых ранах преобладает сапрофитная микрофлора, характеризующаяся высокой чувствительностью к применяемым в стационаре антибиотикам. В процессе лечения происходит качественное изменение микробного пейзажа, увеличивается удельный вес антибиотикорезистентной микрофлоры, в том числе метициллин-резистентного стафилококка, что говорит о преобладающей роли госпитальной микрофлоры в последующие фазы раневого процесса.

Наиболее распространенными микроорганизмами являются *S. aureus* и *P. aeruginosa*, которые обнаруживаются в большинстве проб, как в виде монокультуры, так и в составе микробных ассоциаций. Полученные данные совпадают с результатами исследований других авторов, в других ожоговых стационарах [3, 5, 6, 8, 9].

Выводы

1. В «пограничных» ожоговых ранах наиболее часто встречаются *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, вероятность выделения которых составляет 84 %.

2. В первую фазу раневого процесса в «пограничных» ожоговых ранах преобладает сапрофитная и условно-патогенная микрофлора, представленная преимущественно монокультурой и в меньшей степени ассоциациями микроорганизмов, чувствительных

к большинству антибиотиков, применяемых в ожоговом стационаре.

3. Во вторую фазу раневого процесса в ожоговых ранах преобладает госпитальная микрофлора, удельный вес микробных ассоциаций увеличивается до 33,3 %.

4. Большинство микроорганизмов, выделенных во вторую фазу раневого процесса, являются резистентными к большинству антибиотиков, а *S. aureus* в 80 % случаев представлен метициллин-резистентными штаммами.

References

1. Alekseev A.A., Krutikov M.G., Yakovlev V.P. Burn infection. Etiology, pathogenesis, diagnosis, prevention and treatment. M.: Vuzovskaya kniga, 2010. 416 p.
2. Alekseev A.A., Bobrovnikov A.E., Khunafin S.N. Treatment of the surface and border burn wounds with modern wound dressings // Bashkortostan Medical Journal. 2013. Vol. 8, No. 3. P. 25–30.
3. Andreeva S.V., Bakhareva L.I., Nokhorin D.Yu. The species composition of microflora of burns patients of Chelyabinsk Regional Burn Center // Bulletin of Chelyabinsk State University. 2013. No. 7 (298). P. 58–59.
4. Biocompatible materials: textbook / edited by V.I. Sevastyanov and M.P. Kirpichnikov. M.: MIA, 2011. 560 p.
5. Vorobeva O.N. The etiology of septic processes in burn patients // Bulletin of SB RAMS. 2010. Vol. 30, No. 6. P. 57–63.
6. Golubkova A.A., Trofimova Yu.Yu., Bagin V.A. The clinical significance of the microbiological monitoring of the system of epidemiological surveillance of septic infections in the intensive care unit and an intensive care burn center // Medical Almanac. 2014. No. 4 (34). P. 38–41.
7. Zinovev E.V., Chichkov O.V., Kovalenko A.V., Kononov S.V. Experimental and clinical evaluation of the effectiveness of the local treatment of burn wounds with ointment of silver sulfadiazine with epidermal growth factor // Medicine 21 century. 2007. No. 8, p. 9. P. 48–54.
8. Samartsev V.A., Encheva Yu.A., Kuznetsova M.V., Karpunina T.I. Features of infected burn wounds // Novosti Khirurgii. 2014. Vol. 22, No. 2. P. 199–206.
9. Sakharov S.P., Kozlov L.B., Ivanov V.V. Analysis of the microbial landscape of wound infection in severe thermal injury in children // Fundamental research. 2013. No. 9. P. 468–471.
10. Yakovlev S.V. Systemic antibiotic therapy of burn disease // Fundamental research. 2013. No. 3, p. 1. P. 184–188.
11. Alp Meşe E., Çoruh A., Günay G.K. [et al.]. Risk factors for nosocomial infection and mortality in burn patients: 10 years of experience at a university hospital // J. Burn Care Res. 2012. Vol. 33, No. 3. P. 379–385.
12. Chong S.J., Ahmed S., Tay J.M. [et al.]. 5 year analysis of bacteriology culture in a tropical burns // Burns. 2011. Vol. 37. No. 8. P. 1349–1353.
13. Taneja N., Chari P., Singh M. [et al.]. Evolution of bacterial flora in burn wounds: key role of environmental disinfection in control of infection // Int. J. Burns Trauma. 2013. Vol. 18, No. 2. P. 102–107.
14. Tekin R., Dal T., Bozkurt F. Risk factors for nosocomial burn wound infection caused by multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* // J. Burn Care Res. 2014. Vol. 35, No. 1. P. 73–80.
15. Vural M.K., Altöparlak U., Celebi D., Akçay M.N. Comparison of surface swab and quantitative biopsy cultures dependent on isolated microorganisms from burn wounds // Eurasian J. Med. 2013. Vol. 45, No. 1. P. 34–38.