

УДК 616: 579. 61-616-001.17

АНАЛИЗ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ У ДЕТЕЙ

Сахаров С.П., Козлов Л.Б., Иванов В.В.

ГБОУ ВПО «Тюменская государственная медицинская академия» Минздрава России, Тюмень, e-mail: kozlov@tyumsma.ru

В ожоговом отделении ГБУЗ ТО ОКБ № 1 г. Тюмени за 2007–2012 гг. проведен анализ 262 микробиологических исследований с поверхности ожоговых ран у детей в возрасте от 6 мес. до 17 лет. Регистрировали тяжелую термическую травму II-IIIAB степени. Поверхность ран находилась в пределах 7–70% площади поверхности тела. С целью изучения микробного пейзажа и влияния его на исход термической травмы проведен анализ микрофлоры, выделяемой с поверхности ожоговых ран. У детей с тяжелой термической травмой на ожоговой поверхности в 56% случаев определялась ассоциированная микрофлора, нечувствительная к антибиотикам, входящим в различные группы, и в результате этого наблюдалась хронизация инфекционного процесса. С раневой поверхности выделялись *S. aureus* и *S. epidermidis* в 39,3% случаев, *P.aeruginosa* в 10,3% и *E.coli* в 2,7% случаев. Доминирующим микроорганизмом на поверхности ожоговых ран был *S. epidermidis* (22,5%) – представитель нормальной микрофлоры организма человека. Все вышеперечисленные микроорганизмы обладают способностью формировать биопленки, поэтому при длительном течении инфекционного процесса необходимо определять наличие биопленок на поверхности ожоговых ран. Установлено также, что при концентрации 10^4 – 10^5 микробных клеток в 1 г ожоговой ткани развивался генерализованный инфекционный процесс с септическим исходом.

Ключевые слова: ожог, рана, микробный пейзаж

THE ANALYSIS OF THE MICROBIC LANDSCAPE OF THE WOUND INFECTION AT THE HEAVY THERMAL TRAUMA AT CHILDREN

Sakharov S.P., Kozlov L.B., Ivanov V.V.

Tyumen state medical academy, Tyumen, e-mail: kozlov@tyumsma.ru

In burn office of GBUZ TO «The provincial clinical hospital № 1» Tyumen for 2007–2012 the analysis of 262 microbiological researches from a surface of burn wounds at children aged from 6 months till 17 years is carried out. Registered a heavy thermal trauma of II-IIIAB of degree. The surface of wounds was in limits of 7–70% of surface area of a body. For the purpose of studying of a microbic landscape and influence it for the outcome of a thermal trauma the analysis of the microflora allocated from a surface of burn wounds is carried out. At children the associated microflora decided on a heavy thermal trauma on a burn surface in 56% of cases tolerant to the antibiotics entering into various groups and as a result of it synchronization of infectious process was observed. From a wound surface were allocated with *S.aureus* and *S. epidermidis* in 39,3% of cases, *P.aeruginosa* in 10,3% and *E.coli* in 2,7% of cases. *S* was a dominating microorganism on a surface of burn wound *S.epidermidis* (22,5%) – the representative of normal microflora of a human body. All above-mentioned microorganisms possess ability to form biofilms therefore at the long course of infectious process it is necessary to define existence of biofilms on a surface of burn wounds. It is established also that at concentration of 10^4 – 10^5 microbic cages in 1 g of burn fabric generalized infectious process with a septic outcome.

Keywords: burn, wound, microbic landscape

Термические ожоги у детей представляют собой серьезную медицинскую, социальную и экономическую проблему здравоохранения [7]. В настоящее время, несмотря на успехи, достигнутые в лечении ожоговой болезни, летальность у пострадавших от ожоговой болезни остается высокой. Основной причиной летального исхода при обширных глубоких ожогах является развитие ассоциированной инфекции на поверхности ожоговых ран, вызывающей гибель до 75% пациентов [1].

На поверхности ожоговых ран формируется влажная, коагулированная биологическая ткань с постоянно пополняющимся запасом диффундирующих из плазмы питательных веществ, а температура тела человека обеспечивает оптимальные условия для интенсивного размножения микроорганизмов. По мере репродукции бакте-

рий увеличивается вероятность инвазии их в близлежащие жизнеспособные ткани и проникновение в систему кровообращения. Как только микроорганизмы получают доступ в системный кровоток, инфекционные очаги могут возникать в любых местах и тканях организма, не связанных с первоначальным очагом инфицирования, а постоянное размножение бактерий на поверхности ожоговой раны создает условия для развития сепсиса, что приводит к снижению иммунологической реактивности организма [9, 12].

Электронная микроскопия ожоговых ран показала, что 60% биоптатов, взятых с поверхности ран у больных с хронической инфекцией, содержали биопленкообразующие бактерии [14]. Биопленки, обнаруженные в ране, выглядят светлыми и гелеобразными [13], стимулируют воспаление,

увеличивают проницаемость сосудов, образование раневого экссудата и формирование фибринозного струпа. Наличие струпа может указывать на наличие в ране биопленки. Микробы, находящиеся в биопленке, уже через 6–12 часов обладают некультивируемыми свойствами, становятся устойчивыми к антибиотикам, химиотерапевтическим препаратам, антисептикам и дезинфицирующим растворам в результате образования внеклеточных полисахаридов [3, 10].

О.В. Рыбальченко с соавт. [6] считают, что в течение 24 часов лечение ран будет эффективным как в отношении планктонной фракции бактерий, так и для бактерий, покрытых биопленкой.

Итак, ожоговая поверхность является оптимальной средой для размножения многих бактерий, и с поверхности ожоговой раны выделяются и общепринятыми микробиологическими методами культивируемые бактерии, а также в ранах находятся и некультивируемые биопленкообразующие бактерии, покрытые полисахаридным матриксом. В биопленках создаются благоприятные условия для роста и размножения микробных популяций. Поэтому изучение микрофлоры ожоговых ран является актуальным не только в плане проведения эффективной терапии при ожоговой болезни, но и в плане прогнозирования развития инфекционного процесса, вызванного микробными ассоциациями, находящимися в биопленках.

Целью настоящих исследований явился анализ микробного пейзажа ожоговых ран у детей с тяжелой термической травмой и выявление его влияния на исход инфекционного процесса.

Материалы и методы исследований

В течение 2007–2012 гг. проведен анализ результатов 262 микробиологических исследований проб с поверхности ожоговых ран от 103 больных в возрасте от 6 мес. до 17 лет, лечившихся в ожоговом отделении ГБУЗ ТО ОКБ № 1 г. Тюмени. Под наблюдением находилось 66 (64%) мальчиков и 37 (36%) девочек с ожогом II–IIIАБ–IV степени с площадью поражения от 7 до 70% поверхности тела. В 79,6% случаев ожог был получен горячими жидкостями и в 20,4% – пламенем или электрическим током. Больные находились в отделении реанимации и интенсивной терапии, где проводилась антибактериальная, инфузионно-трансфузионная, респираторная терапия, нутритивная поддержка, обезболивание и местное лечение ран.

Микробиологические исследования раневого отделяемого проводили в соответствии с требованиями приказа МЗ РФ № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

Статистический анализ материалов исследований проводили с помощью компьютерной програм-

мы Statistika v 6.0, с использованием средней арифметической с учетом отклонений средней ошибки ($M \pm m$).

Результаты исследования и их обсуждение

Местные и общие признаки развития раневого инфекционного процесса, как правило, неспецифичны и поэтому необходима разработка специфических методов лабораторной диагностики в динамике развития инфекционного процесса. В плане совершенствования микробиологической диагностики перспективным является разработка инновационных технологий по выявлению биопленкообразующих бактерий в стадии биопленкообразования.

Анализ микробного пейзажа ожоговых ран показал, что наиболее часто на поверхности ран определялись бактерии *Staphylococcus* spp. (42,7%) и *Enterococcus* spp. (18,7%). На долю *S. aureus* и *S. epidermidis* приходилось в сумме 39,3% выделенных микробных культур. Выявлена доминирующая роль эпидермального стафилококка в обсемененности ожоговых ран (22,5%). Очевидно, это связано с тем, что *S. epidermidis* является представителем нормальной микрофлоры кожи и слизистых оболочек человека. Кожа является первичным барьером защиты организма от инфекции. При повреждении кожных покровов термическим агентом произошла диссеминация *S. epidermidis* из близлежащих тканей на ожоговую поверхность. На наш взгляд, наибольшая вероятность инфицирования ожоговой раны связана именно с этими бактериями.

Бактерии *Enterococcus* spp. определялись в 18,7% случаев. Как известно, энтерококки относятся к условно-патогенным микроорганизмам, которые могут вызвать аутоинфекции. В то же время энтерококки обладают достаточно высокой устойчивостью к воздействию дезинфицирующих средств, применяемых в ожоговом отделении, и при достаточном их накоплении они могут приводить к экзогенному инфицированию ран. Этому также способствовало наличие обширной раневой поверхности [5].

Из неферментирующей грамотрицательной микрофлоры в наибольшем проценте случаев встречалась культура *P. aeruginosa* (10,3%). Синегнойная инфекция на ожоговой поверхности у детей вызывала длительное заживление ран, создавала неблагоприятные условия для приживления лоскутов после операции пересадки донорской кожи, объясняла частоту расплавления пересаженных лоскутов на ожоговой поверхности.

E.coli на поверхности ожоговых ран определялась в 2,7% случаев.

Анализ данных литературы показал, что бактерии *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P.aeruginosa* и *E.coli* обладают биопленкообразующей активностью [2, 4, 11].

Как известно, инфицирование ожоговых ран происходит различными путями: заражение через воздух и предметы обихода, инфицирование собственной условно-патогенной микрофлорой, от бактерионосителей медицинского персонала и посетителей больных, а также при врачебных манипуляциях, во время перевязок, преимущественно при длительном лечении пострадавших [1].

На грибковую инфекцию и дифтероиды приходилось 6,5% от всех исследований с поверхности ожоговых ран. Выделение *Candida spp.* составило 3,8%, а *Bacillus spp.* – 4,9%. У 1-го больного с ожогом IIIАБ степени при микробиологическом исследовании раневого отделяемого были обнаружены грибы рода *Candida albicans*, которые привели к сепсису и в итоге к летальному исходу.

Микробные ассоциации на поверхности ожоговых ран определялись в 56% случаев. От больных выделяли от 2-х до 4-х различных микроорганизмов. Монокультура была выделена у 44% обследованных больных. Микстинфекция, включающая 2 вида бактерий, наблюдалась в 40% случаев, 3 – в 13,3% случаев, а 4 – в 2,7% случаев. Проведенный нами анализ показал, что микрофлора в микробных ассоциациях более чем в 60% была не чувствительна к антибиотикам, применяемым в ЛПУ. Микробы были не чувствительны к антибиотикам различных групп (оксициклину, гентамицину, ципрофлоксацину, цефтазидину и др.).

На развитие генерализованного инфекционного процесса существенное влияние оказывала концентрация микробной взвеси на поверхности ожоговых ран. В 1965 г. R.V. Lindberg с соавт. [15] провели исследования по изучению влияния концентрации бактерий на поверхности ожоговых ран на инфекционный процесс и прогнозирование течения ожоговой болезни. Установлено, что при микробной обсемененности ожоговых ран в количестве 10^5 – 10^6 микробных клеток в 1 г ткани развивался генерализованный инфекционный процесс.

Результаты 115 исследований с поверхности ожоговых ран показали, что в 50,4% случаев концентрация бактерий на поверхности ожоговых ран составляла 10^1 – 10^3 степени, в 25,2% – 10^4 – 10^5 степени. Концентрация бактерий свыше 10^6 степени регистрировалась в 24,4% случаев. У детей с концентрацией бактерий на поверхности ожоговой раны равной 10^4 – 10^5 степени микробных клеток в 1 г исследуемой ткани от-

мечалась бактериемия и генерализованное инфекционное осложнение – сепсис.

Анализ летальности 83 детей с тяжелой термической травмой показал, что в 50,6% случаев у больных наблюдалась бактериемия, вызванная преимущественно биопленкообразующими бактериями. В 30,9% случаев были идентифицированы *P. aeruginosa* в 23,8% случаев *S.aureus*. Возможно, некультивируемые бактерии *P. aeruginosa* и *S. aureus* в организме пациентов перешли в культивируемое состояние [8].

Итак, по результатам микробиологических исследований установлено, что на ожоговой поверхности у детей с тяжелой термической травмой в 56% случаев определялась ассоциированная микрофлора. С раневой поверхности выделены *S. aureus* и *S. epidermidis* в 39,3% случаев, *P.aeruginosa* в 10,3% и *E.coli* в 2,7% случаев. Доминирующим микроорганизмом на поверхности ожоговых ран был *S. epidermidis* (22,5%) – представитель нормальной микрофлоры организма человека. Все вышеперечисленные микроорганизмы обладают способностью формировать биопленки, поэтому при длительном течении инфекционного процесса необходимо определять наличие биопленок на поверхности ожоговых ран. Установлено также, что у детей с концентрацией бактерий на поверхности ожоговой раны, равной 10^4 – 10^5 степени микробных клеток в 1 г исследуемой ткани, отмечалась бактериемия и развивался генерализованный инфекционный процесс с септическим исходом.

Выводы

1. За период с 2007 по 2012 гг. в ожоговом отделении ГБУЗ ТО «ОКБ № 1» г. Тюмени у детей в возрасте от 1 до 17 лет при ожоговой травме II–IIIАБ степени размером от 7 до 70% площади поверхности тела наблюдалась ассоциированная инфекция в 56% случаев, включающая 2–4 вида различных микроорганизмов. В микробных ассоциациях бактерии более чем в 60% случаев были не чувствительны к антибиотикам различных групп.

2. Из грамположительной микрофлоры в наибольшем проценте случаев определялся эпидермальный стафилококк (22,5%), а из грамотрицательной – синегнойная палочка.

3. При концентрации микробных клеток 10^4 – 10^5 в 1 г ожоговой ткани развивался генерализованный инфекционный процесс с септическим исходом в 25,2% случаев.

4. Полученные результаты анализа микробного пейзажа ожоговых ран свидетельствуют о необходимости разработки методов диагностики биопленок бактерий, находящихся на поверхности ожоговых ран.

Список литературы

1. Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Яковлев В.П. Ожоговая инфекция. Этиология, патогенез, диагностика, профилактика и лечение. – М.: Вузовская книга, 2010. – 416 с.
2. Афиногенова А.Г. Микробные биопленки РАН: состояние вопроса / А.Г. Афиногенова, Е.Н. Даровская // Травматология и ортопедия России. – 2011. – № 3. – С. 119–125.
3. Иммунобиологические особенности бактериальных клеток, входящих в состав «медицинских биопленок» / В.А. Бехало, В.М. Бондаренко, Е.В. Сысолятина, Е.В. Нагурская // Микробиология. – 2010. – № 4. – С. 97–107.
4. Винник Ю.С. Микробные биопленки в хирургии: механизмы образования, лекарственная устойчивость, пути решения проблемы / Ю.С. Винник, О.В. Перьянова, Е.В. Онзуль, О.В. Теплякова // Новости хирургии. – 2010. – Т. 18. – № 6. – С. 115–125.
5. Маянский А.Н. Патогенетическая микробиология: рук. – Нижний Новгород: Нижненовгород. гос. мед. академия, 2006. – 124 с.
6. Рыбальченко О.В. Атлас ультраструктуры микробиоты кишечника человека / О.В. Рыбальченко, В.М. Бондаренко, В.П. Добраца. – СПб.: ИИЦ ВМА, 2008. – 112 с.
7. Сахаров С.П. Эпидемиология детского ожогового травматизма // Детская хирургия, 2013. – № 2. – С. 29–31.
8. Сахаров, С.П. Летальные исходы ожоговой болезни у детей: 18-летний опыт работы / С.П. Сахаров, В.И. Иванов, Н.П. Шень, Д.В. Сучков // Скорая медицинская помощь. – 2011. – № 11. – С. 52–57.
9. Belba M., Belba G. Acute Renal Failure In Severe Burns. Conclusions After Analyses Of Deaths During 1998 // Annals of Burns and Fire Disasters. – vol. XIII – n.2 – June, 2000.
10. Bester E. Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates / E. Bester (et al.) // Appl. Environ. Microbiol. – 2010. – Vol. 76, № 4. – P. 1189–1197.
11. Воробей Є.С. Бактеріальні біопліки. Quorum sensing – «Відчуття кворуму» у бактерій в біоплівках / Є.С. Воробей, О.С. Воронкова, А.І. Вінніков // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2012. – Вип. 20, т. 1. – С. 13–22.
12. Gang Raj Kumar, SanyalSuhas C., Bang RameswarLal et al. Staphylococcal septicaemia in burns // Burns. – 2000. – № 4. – P. 359–366.
13. Hurlow J. Clinical experience with wound biofilm and management: a case series / J. Hurlow, P.G. Bowler // Ostomy Wound Manage. – 2009. – Vol. 55, № 4. – P. 38–49.
14. James G.A. Biofilms in chronic wounds / G.A. James (et al.) // Wound Repair Regen. – 2008. – Vol. 16, № 1. – P. 37–44.
15. Lidberg R.B., Moncrief J.A., Switzer W.E. et. Al. The successful control of burn wound sepsis // J. Trauma. – 1965. – Vol. 5. – P. 601–616.

References

1. Alekseev A.A., Krutikov M.G., Jakovlev V.P. *Ozhogovaya infekcija. Jetiologija, patogenez, diagnostika, profilaktika i lechenie*. Mjscow, Vuzovskaja kniga, 2010, 416 p.
2. Afinogenova A. G., Darovskaja E. N. *Travmatologija i ortopedija Rossii*, 2011, no. 3, pp. 119–125.
3. Behalo V.A., Bondarenko V.M., Sysoljatina E.V., Nagurskaja E.V. *Mikrobiologija*, 2010, no. 4, pp. 97–107.
4. Vinnik Ju. S., Per'janova O.V., Onzul' E.V., Tepljakova O.V. *Novosti hirurgi*, 2010, no. 6, pp. 115–125.
5. Majanskij A.N. *Patogeneticheskaja mikrobiologija: Nizhnij Novgorod*, 2006. 520 p.
6. Rybal'chenko O.V., Bondarenko V.M., Dobrica V.P.. *Atlas ul'trastrukury mikrobioty kishhechnika cheloveka*, Spb., HSE VMA, 2008. 112 p.
7. Sakharov S.P. *Detskaja hirurgija*, 2013, no.2, pp. 29–31.
8. Sakharov S.P., Ivanov V.V., Shen' N.P., Suchkov D.V. *Skoraja medicinskaja pomoshh'*, 2011, no 1. pp. 52–57.
9. Belba M., Belba G. *Annals of Burns and Fire Disasters*, vol. XIII, no. 2, June, 2000.
10. E. Bester. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2010, no. 4, pp. 1189–1197.
11. Vorobej E.S., Voronkova O.S., Vinnikov A.I. *Vistnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Biologija. Ekologija*, 2012, Vip. 20, no. 1, pp. 13–22.
12. Gang Raj Kumar, Sanyal Suhas C., Bang Rameswar Lal. *Burns*, 2000, no.4, pp. 359–366.
13. Hurlow J., Bowler P.G. *Ostomy Wound Manage.*, 2009, Vol. 55, no.4, pp. 38–49.
14. James G.A. *Wound Repair Regen.*, 2008, Vol. 16, no 1, pp. 37–44.
15. Lidberg R.B., Moncrief J.A., Switzer W.E. *J. Trauma*, 1965, no. 5, pp. 601–616.

Рецензенты:

Мефодьев В.В., д.м.н., профессор кафедры медико-профилактического дела ФПК и ППС, ГБОУ ВПО «Тюменская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Тюмень;

Мальчевский В.А., д.м.н., главный научный сотрудник Отдела протекторных механизмов репродуктивных систем криосферы, ФГБУН «Тюменский научный центр» СО РАН, г. Тюмень.

Работа поступила в редакцию 15.08.2013.