

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 617-001.17-06:616.9-022.369:614.2

Сабирова Е.В.¹, Гординская Н.А.¹, Абрамова Н.В.¹, Карасева Г.Н.¹, Савочкина Ю.А.²

МИКРОЭКОЛОГИЯ ОЖОГОВЫХ СТАЦИОНАРОВ

¹ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, 603155, Нижний Новгород;

²ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, Москва

*В работе проанализированы возбудители раневой ожоговой инфекции в отделениях ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России за последние 2,5 года. Ведущая роль в этиологии инфекции у обожженных принадлежит стафилококкам, причем у взрослых пациентов чаще выделяют *S. aureus*, а у детей – коагулазонегативные штаммы. Второе место в структуре раневой ожоговой инфекции в текущем году практически поровну делят *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*. 80% изолятов *K. pneumoniae* продуцируют β -лактамазы. Продуцентов металло- β -лактамаз среди клебсиел не обнаружено. Ежегодно увеличивается количество раневых энтерококков, составляющих в текущем году 15,3% у детей и 11,1% у взрослых.*

Ключевые слова: ожоговая инфекция; *S. aureus*; *A. baumannii*; *P. aeruginosa*; *K. pneumoniae*; бета-лактамазы; карбапенемазы; β -лактамазы расширенного спектра CTX-M групп.

Для цитирования: Сабирова Е.В., Гординская Н.А., Абрамова Н.В., Карасева Г.Н., Савочкина Ю.А. Микроэкология ожоговых стационаров. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (5): 310-312 DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-5-310-312>

Sabirova E.V.¹, Gordinskaya N.A.¹, Abramova N.V.¹, Karaseva G.N.¹, Savochkina Yu.A.²

THE MICRO-ECOLOGY OF BURN HOSPITALS

¹The Privolzhskii Federal medical research center of Minzdrav of Russia, 603155 Nizhny Novgorod, Russia

²The central research institute of epidemiology of the Rospotrebnadzor, 111123 Moscow, Russia

*The article analyzes agents of wound burn infection on departments of the Privolzhskii Federal medical research center during last 2.5 years. The leading role in infection etiology in the burnt ones belongs to staphylococci. At that, in adult patients more frequently *S.aureus* is separated and in children - coagulase-negative strains. During current year, the second place in the structure of wound burn infection factually is divided in equal proportions *A. baumannii*, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*. About 80% of isolates of *K. pneumoniae* are produced by β -lactamase. No producers of metallo- β -lactamases were detected among *Klebsiella*. Annually, number of wound enterococci increases, making up to 15.3% in children and 11.1% in adults.*

Key words: burn infection; *S. aureus*; *A. baumannii*; *P. aeruginosa*; *K. pneumoniae*; β -lactamases; carbapenemases; β -lactamases of enlarged spectrum of CTX-M groups

For citation: Sabirova E.V., Gordinskaya N.A., Abramova N.V., Karaseva G.N., Savochkina Yu.A. The micro-ecology of burn hospitals. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2017; 62 (5): 310-312. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-5-310-312>

For correspondence: Gordinskaya N.A., doctor of medical sciences, the head of laboratory sector. e-mail: info@nniit.ru.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 09.11.2016

Accepted 29.11.2016

Термическая травма и ожоговая болезнь приводят к резким изменениям в организме пострадавших, что связано с нарушением жизненно важных функций, эндогенной интоксикацией и развитием полиорганной недостаточности [1]. Раневая ожоговая инфекция – неотъемлемая составляющая ожоговой болезни. Инфекции ожоговых ран до настоящего времени определяют состояние пациентов в целом и нередко приводят к летальным исходам [2–7]. Рациональное лечение раневой ожоговой инфекции – одна из наиболее сложных проблем в комбустиологии, решение которой разрабаты-

вают врачи разных специальностей. Наличие ожоговой раны нивелирует практически все защитные барьеры, создавая «входные ворота» для микроорганизмов. Ожоговая рана – благоприятный субстрат для беспрепятственного размножения бактерий, она практически не бывает стерильной, а длительность госпитализации пострадавших с тяжелой термической травмой способствует колонизации ран госпитальными штаммами микроорганизмов, как правило, полирезистентными к антимикробным препаратам [8–11].

Цель исследования – изучение микробного пейзажа раневого отделяемого у пациентов Нижегородского ожогового центра ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России.

Материал и методы. Проанализированы результаты культурального исследования 936 проб биоматериалов от пациентов детского и взрослого ожоговых отделений за 2014–

Для корреспонденции: Гординская Наталья Александровна, д-р мед. наук, рук. лабораторного сектора ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России; e-mail: info@nniit.ru.

Таблица 1

2015 г. и первые 6 мес 2016 г. Всего выделено 2423 штаммов микроорганизмов.

Видовую идентификацию микрофлоры проводили на анализаторе iEMS Reader FM (Labsystems, Финляндия) с помощью набора тест-систем (Lachema, Чехия). Анализ видового состава микрофлоры и устойчивости к антибактериальным препаратам осуществляли с помощью компьютерной программы «Микроб-автомат».

Антибиотикорезистентность определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтон с помощью сенси-дисков (BioRad, США). Минимальные подавляющие концентрации препаратов рассчитывали на анализаторе антибиотикограмм «ADAGIO» (BioRad, США) [2].

Выявление генов металло-β-лактамаз (группы IMP, VIM, NDM) у псевдомонад, генов карбапенемаз групп KPC и OXA-48-подобных у клебсиелл, OXA-карбапенемаз (группы OXA-23, OXA-58, OXA-40-подобных) и видоспецифических (ген OXA-51) β-лактамаз *Acinetobacter baumannii* осуществляли методом ПЦР с гибридационно-флюоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени с помощью наборов реагентов «АмплиСенс MDR-MBL-FL», «АмплиСенс MDR-KPC/OXA-48-FL» и «АмплиСенс MDR Ab-OXA» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия) на приборе «Rotor Gene» (Corbett Research, Австралия). Выделение ДНК из штаммов проводили согласно инструкции набора «ДНК-Сорб-AM» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия).

Детекцию β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) у энтеробактерий проводили методом «двойных дисков», используя диски с амоксициклавом, цефотаксимом, цефтазидимом. Для сравнения использовали штамм *E. coli* ATCC 25922, не продуцирующий β-лактамазы, и штамм *E. coli* ATCC 700603, продуцирующий БЛРС.

Выявление генов БЛРС группы CTX-M у клебсиелл осуществляли методом ПЦР-РВ с использованием методики и реагентов, разработанных ФБУН ЦНИИЭ эпидемиологии.

Для проведения реакции использовали:

– олигонуклеотидные праймеры (в концентрации 0,24 мкМ каждого):

CTX-M-F1 5'-CCACCGGTGCAGCGAGCAT-3';
CTX-M-F2 5'-CTACCGGTAGCGCGAGCAT-3';
CTX-M-F9 5'-CGACCGGCGCAGCCAGCAT-3';
CTXM-R1 5'-GCGATATCGTTGGTGGTGCCAT-3';
CTXM-R8 5'-GGCGATGTCATTCGTCGTACCAT-3';

– флюоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды (в концентрации 0,04 мкМ каждого):

CTX-M-Z1 R6G-5'-CAACCCAGGAAGCAGGCAGTCCA-3'-BHQ1;
CTX-M-Z2 R6G-5'-CTACCCATGATTTCCGGCAGACCC-3'-BHQ1;
CTX-M-Z8 R6G-5'-CAACCCACGATGTGGGTAGCCC-3'-BHQ1;
CTX-M-Z9 R6G-5'-CAGTCCACGACGTCGGTAAGCC'-3'-BHQ1.

Реакционная смесь включала 5 мкл ПЦР-буфера ПЦР-смесь-2-FRT, 0,5 мкл Taq-полимеразы TaqF, 10 мкл смеси праймеров и дНТФ, а также 10 мкл пробы ДНК. ПЦР проводили по следующей программе амплификации: 95°C – 15 мин, далее 45 циклов 95°C – 5 с/60°C – 20 с/72°C – 10 с (детекция сигнала – при 60°C).

Статистическую обработку материала проводили с использованием программы Statistica 10.

Результаты. В структуре возбудителей ожоговой инфекции у пациентов с тяжелой термической травмой преобладали грамположительные микроорганизмы. Абсолютное лидерство принадлежало стафилококкам (табл. 1).

Структура возбудителей раневой ожоговой инфекции (%)

Микроорганизм	2014 г.		2015 г.		6 мес 2016 г.	
	дети	взрослые	дети	взрослые	дети	взрослые
<i>S. aureus</i>	18,2	23,9	20,7	23,5	15,3	20,6
CoNS	26,2	11,9	33,3	16,1	23,6	14,8
<i>Acinetobacter sp.</i>	12,2	16,1	9,9	15,0	13,9	14,3
<i>Pseudomonas sp.</i>	10,5	15,2	9,0	15,4	11,1	11,0
<i>K. pneumoniae</i>	2,9	7,4	6,3	9,9	9,7	13,9
Энтеробактерии	6,2	8,0	5,8	4,2	5,6	3,9
<i>Enterococcus sp.</i>	12,2	8,0	13,6	8,0	15,3	11,0
Прочие	11,7	9,5	0,9	7,9	5,5	10,5

Среди стафилококков у взрослых пациентов с термической травмой преобладает *Staphylococcus aureus*, а у детей – коагулазонегативные штаммы (CoNS). При этом среди коагулазонегативных стафилококков значительная доля штаммов имеет фенотип метициллинрезистентных изолятов (MRSA или MRSE) как у детей с ожогами, так и у взрослых (табл. 2).

У всех метициллинрезистентных стафилококков обнаружен *meaA*-ген. В анализируемый период отмечено значительное увеличение количества MRSA в детском отделении.

Данная работа проведена в Федеральном исследовательском центре (Центр), в ожоговых отделениях которого лечат пациентов с термической травмой из различных регионов Приволжского федерального округа. Тяжелых ожоговых больных нередко переводят в Центр на этапе лечения, как правило, уже с раневой инфекцией, поэтому, несмотря на рациональную антибактериальную терапию и различные эпидемиологические мероприятия по сдерживанию распространения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, наблюдают подъемы и спады численности определенных микроорганизмов независимо от общей тенденции.

При анализе грамположительной микрофлоры в ожоговых стационарах можно отметить увеличение количества энтерококков. Если в предыдущие годы процент выделения *Enterococcus spp.* у пациентов с тяжелой термической травмой был настолько мал, что их объединяли со стрептококками или относили в группу «прочие», то в последние годы они составляли более 10% всей раневой микрофлоры. Количество раневых энтерококков в 2016 г. сравнялось с количеством выделенных псевдомонад, а в детском отделении даже превысило. В 2016 г. впервые в отделении термической травмы взрослых выделен штамм *Enterococcus faecium*, резистентный к ванкомицину. Появление ванкомицинрезистентных энтерококков в ожоговых стационарах открывает новую проблему резистентности микроорганизмов – возбудителей раневой инфекции. Несмотря на значительное увеличение доли энтерококков в раневом отделяемом у ожоговых больных, следует подчеркнуть, что в монокультуре энтерококков выделяют крайне редко; как правило, их встречают в полимикробных ассоциациях.

Таблица 2

Частота выделения метициллинрезистентных штаммов стафилококков (%)

Фенотип	2014 г.		2015 г.		6 мес 2016 г.	
	дети	взрослые	дети	взрослые	дети	взрослые
MRSA	17,4	72,6	34,1	67,2	47,4	57,4
MRSE	44,6	43,3	11,3	29,4	25,0	42,9

Таблица 3

Частота выявления штаммов *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующих β-лактамазы

Год	Отделение	
	детское	взрослое
2014 г.	77,8	95,0
2015 г.	81,8	87,5
6 мес 2016 г.	85,7	83,3

Серьезные изменения наблюдают в последние годы среди грамотрицательных возбудителей раневой инфекции. Многие годы неферментирующие грамотрицательные бактерии в микробном пейзаже ожоговых стационаров занимали второе место после стафилококков, однако ежегодно регистрируют увеличение количества энтеробактерий, особенно клебсиелл, 95% которых идентифицированы как *K. pneumoniae*. В текущем году численность клебсиелл у пациентов с тяжелой термической травмой сравнялась с числом псевдомонад и ацинетобактеров. Раневые изоляты *K. pneumoniae*, выделенные у пациентов с термической травмой, как правило, отличаются полирезистентностью к антимикробным препаратам. Фенотипически более 80% выделенных штаммов *K. pneumoniae* – продуценты β-лактамаз (табл. 3).

В отношении штаммов *K. pneumoniae*, фенотипически подозрительных на наличие β-лактамаз расширенного спектра, проведены молекулярные исследования по выявлению генов БЛРС СТХ-М групп как наиболее распространенных в России. Результаты подтвердили наличие гена, кодирующего продукцию БЛРС СТХ-М групп у всех тестируемых штаммов.

Продуцентов металло-β-лактамаз среди клебсиелл за анализируемый период не обнаружено. Молекулярно-генетический анализ неферментирующих грамотрицательных бактерий показал, что полирезистентные изоляты *Acinetobacter sp.* принадлежат к виду *A. baumannii* и несут ген *OXA-40*–подобных карбапенемаз, а резистентные к карбапенемам *P. aeruginosa* экспрессируют ген металло-β-лактамазы *VIM-2* типа.

Заключение. Микроэкологию ожоговых стационаров формируют разнообразные микроорганизмы. Из 2423 клинических изолятов за последние годы выделены 6 основных видов микроорганизмов: золотистые и коагулазоотрицательные стафилококки, ацинетобактеры, псевдомонады, энтеробактерии с преобладанием клебсиелл и энтерококки; остальные изоляты объединены в общую группу ввиду их немногочисленности. Половину всех возбудителей ожоговой инфекции составляют грамположительные кокки (стафилококки и энтерококки), вторую половину – грамотрицательные палочки (ферментирующие и неферментирующие). Абсолютное количество тех или иных микроорганизмов в конкретном отделении ежегодно меняется, однако сохраняются общие закономерности: среди раневой микрофлоры ожоговых стационаров выделяют большое количество штаммов, полирезистентных к антимикробным препаратам и трудно элиминируемых из раны. В перечне «проблемных» раневых изолятов присутствуют стафилококки, несущие *tesA*-ген, ванкомицинрезистентные энтерококки, БЛРС-продуцирующие энтеробактерии и неферментирующие грамотрицательные бактерии – продуценты различных карбапенемаз. Микробиологический мониторинг структуры возбудителей ожоговой инфекции расшифровывает микроэкологические особенности конкретного стационара, а молекулярные исследования по детекции

генов, кодирующих ферменты антимикробной резистентности, позволяют назначить рациональную терапию.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 7–11 см. REFERENCES)

1. Самарцев В.А., Еньчина Ю.А., Кузнецова М.В., Карпунина Т.И. Особенности инфицирования ожоговых ран. *Новости хирургии*. 2014; 22 (2): 199–205.
2. Андреева С.В., Бахарева Л.И., Нохрин Д.Ю. Видовой состав микрофлоры ожоговых ран пациентов Челябинского областного ожогового центра. *Вестник Челябинского государственного университета. Биология*. 2013; (7): 58–9.
3. Билимова С.И. Характеристика факторов персистенции энтерококков. *Микробиология*. 2000; (4): 104–5.
4. Шамаева С.Х., Миронов А.Ю., Потапов А.Ф., Петрова К.М., Евграфов С.Ю. Микрофлора ожоговых ран и ее чувствительность к антибиотикам у детей с ожоговой болезнью. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2011; (2): 91–5.
5. Воробьева О.Н., Денисенко Л.И., Жилина Н.М. Этиология гнойно-септических процессов у ожоговых больных. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2011; 30 (6): 57–63.
6. Гординская Н.А., Сабирова Е.В., Абрамова Н.В., Дударева Е.В., Некаева Е.С. Значение микроорганизмов семейства Enterobacteriaceae в этиологии раневой ожоговой инфекции. *Фундаментальные исследования*. 2013; (12–2): 191–4.

REFERENCES

1. Samartsev V.A., En'china Yu.A., Kuznetsova M.V., Karpunina T.I. Features of infection of burn wounds. *Novosti khirurgii*. 2014; 22 (2): 199–205. (in Russian)
2. Andreeva S.V., Bakhareva L.I., Nokhrin D.Yu. Species composition of the microflora of burn wounds of patients of the Chelyabinsk regional burn center. *Vestnik Chelyabinskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*. 2013; (7): 58–9. (in Russian)
3. Bilimova S.I. Characterization of persistence factors of enterococci. *Mikrobiologiya*. 2000; (4): 104–5. (in Russian)
4. Shamaeva S.Kh., Mironov A. Yu., Potapov A.F., Petrova K.M., Evgrafov S.Yu. The microflora of burn wounds and its sensitivity to antibiotics in children with burn disease. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek i ego zdorov'e"*. 2011; (2): 91–5. (in Russian)
5. Vorob'eva O.N., Denisenko L.I., Zhilina N.M. The etiology of purulent-septic processes in patients. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*. 2011; 30 (6): 57–63. (in Russian)
6. Gordinskaya N.A., Sabirova E.V., Abramova N.V., Dudareva E.V., Nekaeva E.S. The value of microorganisms of the family Enterobacteriaceae the etiology of burn wound infection. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2013; (12–2): 191–4. (in Russian)
7. Church D., Elsayed S., Reid O., Winston B., Lindsay R. Burn wound infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006; 19 (2): 403–34.
8. Quenan A.M., Bush K. Carbapenemases: the versatile β-lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.* 2007; 20 (3): 440–58.
9. Murray C.K., Holmes R.L., Ellis M.W., Mende K., Wolf S.E., McDougal L.K. et al. Twenty-five year epidemiology of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates recovered at a burn center. *Burns*. 2009; 35 (8): 1112–7.
10. Lodise T.P., McKinnon P.S., Swiderski L., Rubac M.J. Outcomes analysis of delayed antibiotic treatment for hospital-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 36 (11): 1418–23.
11. Falagas M.E., Karageorgopoulos D.E. Extended-Spectrum β-lactamase-producing organisms. *J. Hosp. Infect.* 2009; 73 (4): 345–54.

Поступила 09.11.16

Принята к печати 29.11.16