

© РОЗОВА Л.В., ГОДОВЫХ Н.В., 2016

УДК 616.71-018.46-002.3-078

Розова Л.В., Годовых Н.В.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГНОЙНОГО ОЧАГА ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОСТЕОМИЕЛИТОМ ДЛИННЫХ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ

ФГБУ «РНЦ ВТО им. акад. Г.А. Илизарова Минздрава России», 640014, г. Курган, Российская Федерация

Проанализированы результаты микробиологического исследования патологического материала, взятого из свищей и операционных ран у 155 больных хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей в стадии обострения в период 2014–2015 гг. Исследовано 126 проб из свищей и 95 проб из ран, выделено соответственно 164 и 102 штамма бактерий. Определена микробная обсемененность ран и свищей. Изучен видовой состав микрофлоры. Установлено, что в исследуемых группах основным возбудителем по-прежнему остается стафилококк, а приоритетным патогеном — *Staphylococcus aureus*, имеющий незначительные отличия по частоте встречаемости и коэффициенту резистентности. MRSA из операционных ран выделялся на 5,6% чаще, чем из свищей. Самое высокое выявление штаммов *S. aureus* и MRSA приходится на 2009–2010 гг. В 2015 г. отмечено самое низкое выявление *S. aureus* при относительно высоком уровне выявления MRSA. С помощью диско-диффузионного D-теста проведено определение резистентности к клиндамицину индуцибельного типа 17 штаммов *S. aureus*, устойчивых к эритромицину и чувствительных к клиндамицину. Индуцибельная резистентность к клиндамицину для штаммов из операционных ран составила 62,5%, что почти в 3 раза выше, чем у штаммов, выделенных из свищей. Важную роль в хронизации остеомиелита длинных трубчатых костей играют грамотрицательные микроорганизмы (*E. coli*, энтеробактеры, *P. aeruginosa* и др.), частота обнаружения которых в операционных ранах составляет 22,5%, в свищах — 17,1%.

Ключевые слова: хронический остеомиелит; стафилококки; коэффициент антибиотикорезистентности; индуцибельная резистентность к клиндамицину; метициллинрезистентные штаммы.

Для цитирования: Розова Л.В., Годовых Н.В. Микробиологическое исследование гнойного очага воспаления у больных хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (10): 727-730. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-10-727-730

Rosova L.V., Godovykh N.V.

THE MICROBIOLOGICAL STUDY OF PURULENT FOCUS OF INFLAMMATION IN PATIENTS WITH CHRONIC OSTEOMYELITIS OF LONG BONES

The academician G.A. Ilizarov Russian research center "Restorative traumatology and orthopedics" of Minzdrav of Russia, 640014 Kurgan, Russia

The article presents analysis of results of microbiological study of pathologic samples from fistula and surgical wounds of 155 patients with chronic osteomyelitis of long bones in the period of exacerbation of disease during 2014-2015. In totality, 126 samples from fistula and 95 samples from wounds were analyzed. Correspondingly, 164 and 102 strains of bacteria were separated. The microbial contamination of fistula and wounds was established. The species composition of microflora was analyzed. It is established that in the analyzed groups the main agent still continues to be staphylococcus and priority pathogen *Staphylococcus aureus* differing slightly in rate of occurrence and coefficient of resistance. MRSA was separated up to 5.6% more often from surgical wounds than from fistula. The highest detection rate of strains *S. aureus* and MRSA falls on 2009-2010. In 2015, the lowest detection rate of *S. aureus* was marked with relatively high rate of detection of MRSA. The disk diffusion D-test was applied to determine resistance of inducible type to Clindamycin of 17 strains of *S. aureus* resistant to Erythromycin and sensitive to Clindamycin. The inducible resistance to Clindamycin for strains from surgery wounds made up to 62.5% that is three times higher than in case of strains separated from fistula. The important role in development of chronic of osteomyelitis of long bones is played by Gram-negative microorganisms (*E. coli*, Enterobacter, *P. aeruginosa*, etc.). The rate of detection of these microorganisms in surgery wounds makes up to 22.5% and 17.1% in fistula.

Key words: chronic osteomyelitis; staphylococcus; rate of antibiotic resistance; inducible resistance to Clindamycin; methicillin-resistant strains

For citation: Rosova L.V., Godovykh N.V. The microbiological study of purulent focus of inflammation in patients with chronic osteomyelitis of long bones. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2016; 61 (10): 727-730. (in Russ.). DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-10-727-730

For correspondence: Godovykh N.V., junior research worker of scientific clinical laboratory of microbiology and immunology. e-mail: natalia_nvn@mail.ru

Information about authors

Rosova L.V., <http://orcid.org/0000-0002-2399-8091>

Godovykh N.V., <http://orcid.org/0000-0001-8512-4165>

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

Financing. The study had no sponsor support.

Received 22.04.2016
Accepted 15.05.2016

Для корреспонденции: Годовых Наталья Викторовна, мл. науч. сотр. научно-клинической лаб. микробиологии и иммунологии, e-mail: natalia_nvn@mail.ru

Введение. Проблема гнойных осложнений в травматологических клиниках продолжает оставаться актуальной. Частым осложнением является развитие остеомиелита (до 15% случаев). Остеомиелит верхних конечностей наблюдается в 9%, нижних конечностей — в 15% случаев, переходя в хроническую форму при неадекватном лечении острой инфекции у 40% больных [1].

После открытых переломов остеомиелит диагностируется в 3—24% наблюдений и в 1—7% случаев после оперативного лечения закрытых переломов. Рецидивы остеомиелита отмечаются у 20—30% больных, приводя к функциональной неполноценности конечности в 10,3—57% наблюдений [2, 3].

В литературе встречаются различные данные об этиологической структуре хронического остеомиелита. Расширение видового спектра микрофлоры, способной играть этиологическую роль в развитии хронического остеомиелита, и повышение антибиотикорезистентности возбудителей указывают на необходимость проведения микробиологического мониторинга, осуществления инфекционного контроля и совершенствования тактики применения антибиотиков в стационарах.

Цель: выявление основных возбудителей и их антибиотикорезистентности у больных хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей в рамках микробиологического мониторинга возбудителей гнойной инфекции.

Материал и методы. Проанализированы результаты микробиологического исследования патологического материала, взятого у 155 больных хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей в стадии обострения в период 2014—2015 гг. Возраст пациентов составлял от 19 до 76 лет. Среди обследованных больных 129 мужчин и 26 женщин. В качестве объекта исследования использовано отделяемое свищей (в дооперационном периоде) и операционных ран (во время операции). Исследования выполняли культуральным методом на плотных питательных средах: 5% кровяном агаре, желточно-солевом агаре, среде Левина. Посевы инкубировали в течение 20—24 ч в CO₂-инкубаторе.

Микробиологические исследования включали определение общего микробного числа (в КОЕ/мл), видовую идентификацию микроорганизмов и формирование антибиотикограммы, которые проводились в соответствии с общепринятыми рекомендациями при помощи баканализатора «WalkAway-40 Plus» («Siemens»).

Согласно рекомендациям, в набор тестируемых препаратов для стафилококков входили бензилпенициллин, эритромицин, тетрациклин, клиндамицин, оксациллин, гентамицин, ципрофлоксацин, рифампицин, ванкомицин, линкомицин. Анализ данных по антибиотикочувствительности исследуемых штаммов осуществлялся при помощи аналитической компьютерной программы WHONET 5,6. Условный коэффициент резистентности для каждого штамма *Staphylococcus aureus*, выделенного из свищей и очага воспаления, рассчитывали по формуле: $K = R/N$, где K — коэффициент резистентности, R — число антибиотиков, к которым резистентен исследуемый штамм, N — общее количество тестируемых антибиотиков [4]. Для статистической обработки использовали программное обеспечение «AtteStat 1.0» [5].

Результаты и обсуждение. При обследовании больных хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей взято 126 проб из свищей и 95 проб из ран; выделено соответственно 164 и 102 штамма бактерий. Микробная обсемененность, составляющая $\geq 1 \times 10^5$ КОЕ/мл, выявлена в 74,4% проб из свищей и в 45,3% проб из ран.

Анализ полученных данных показал как сходство, так и различия в составе возбудителей хронического посттравматического остеомиелита в зависимости от места забора материала. В исследуемых группах в настоящее время основным



Рис. 1. Частота выявления различных групп микроорганизмов у больных с хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей.

возбудителем остается стафилококк, приоритетным патогеном — *S. aureus*.

Наши исследования подтверждаются данными литературы о наибольшей значимости *S. aureus* при инфекции мягких тканей, раневой инфекции, остеомиелите [6—8].

Микробный пейзаж свищей и операционных ран у больных хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей представлен на рис. 1. *S. aureus*, будучи основным патогеном, чаще выявлялся из свищей (59,1%), реже — из операционных ран (55,9%). Коагулазонегативные стафилококки (*S. hominis*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. auricularis*, *S. capitis*, *S. hyicus*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*) чаще высевались из операционных ран и составляли 18,3% против 14,7% (*S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. hyicus*, *S. cohnii*) — из свищей.

Из операционных ран чаще выявлялись грамотрицательные микроорганизмы, стрептококки, энтерококки. Видовой состав кокков представлен *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*.

Грамотрицательные микроорганизмы, играющие важную роль в хронизации остеомиелита, встречались в отделяе-

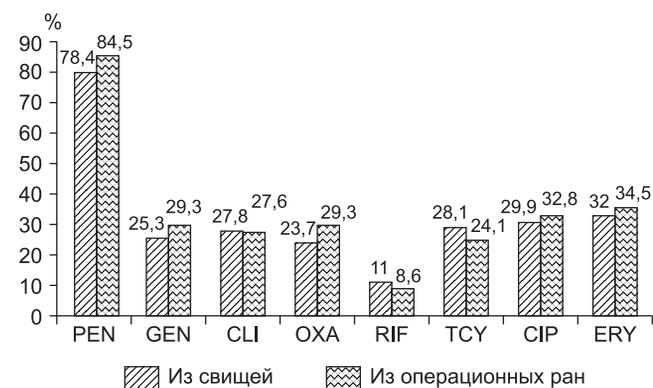


Рис. 2. Резистентность *Staphylococcus aureus* у больных с хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей.

Примечание: бензилпенициллин (PEN), эритромицин (ERY), тетрациклин (TCY), клиндамицин (CLI), оксациллин (OXA), гентамицин (GEN), ципрофлоксацин (CIP), рифампицин (RIF).

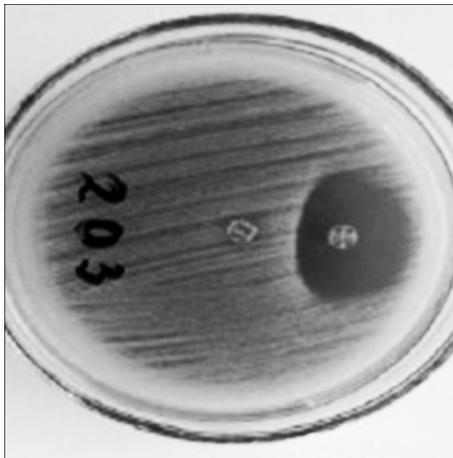


Рис. 3. Д-зона ингибирования вокруг диска с клиндамицином указывает на индуцибельный тип резистентности.

мом свищей в 17,1% случаев, в отделяемом операционных ран — в 22,5%. Неферментирующие бактерии (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Moraxella* sp.) чаще высевались из операционных ран (10,8%), чем из свищей (*P. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* — 5,5%). Энтеробактерии имели одинаковый процент выявления, их видовой состав в обеих группах представлен *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*. Из отделяемого свищей выявлены *Serratia marcescens*, из операционных ран — *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*.

Антибиотикограммы клинических изолятов *S. aureus* из свищей и операционных ран представлены на рис. 2. Между клиническими штаммами *S. aureus* из свищей и операционных ран имелись незначительные различия в устойчивости к антибактериальным препаратам. Все выделенные штаммы *S. aureus* имели высокий процент резистентности к действию пенициллина (74,8% — из свищей, 84,5% — из операционных ран), низкий процент резистентности к рифампицину (11 и 8,6%, соответственно). Частота встречаемости метициллинрезистентных *S. aureus* (MRSA) составляла 23,7% из свищей и 29,3% из операционных ран. *S. aureus* сохраняет хорошую чувствительность к гентамицину, клиндамицину, эритромицину, тетрациклину, ципрофлоксацину. Резистентных к ванкомицину и линкомицину штаммов не выявлено.

Проведено определение индуцибельной резистентности к клиндамицину у 17 штаммов *S. aureus*, устойчивых к эритро-

мицину и чувствительных к клиндамицину индуцибельного типа, с помощью постановки диско-диффузионного D-теста (рис. 3) [9, 10]. Индуцибельная резистентность к клиндамицину составила 22,2% у клинических изолятов из свищей и 62,5% — у изолятов из операционных ран.

С использованием коэффициента резистентности проанализированы изменения антибиотикорезистентности *S. aureus*, выделенных из отделяемого свищей и из операционных ран. Определяя коэффициент резистентности, который варьирует от 0 до 1, можно судить об относительной интегральной резистентности микроорганизма.

Средние коэффициенты показателей резистентности штаммов, выделенных из отделяемого свищей ($0,266 \pm 0,03$) и из операционных ран ($0,265 \pm 0,03$), находились практически на одном уровне. Выявлен невысокий коэффициент резистентности *S. aureus* к исследуемым препаратам, не имеющим между собой достоверных различий.

Проведен мониторинг выделения *S. aureus* из патологического материала свищей и операционных ран и его резистентности к метициллину за период 2005—2015 гг. (рис. 4).

Самый высокий процент выявленных штаммов *S. aureus* и MRSA приходится на 2009—2010 гг. В 2015 г. отмечен самый низкий процент выявления *S. aureus* при относительно высоком уровне MRSA. Мониторинг резистентности к метициллину *S. aureus* у данной категории больных в предшествующий период (1990—2000 гг.) показал, что ее уровень существенно не повысился [11].

Заключение. Как приоритетный патоген для обеих групп пациентов *S. aureus* продемонстрировал незначительные различия по частоте встречаемости и по коэффициенту резистентности. 10-летний мониторинг показал, что самое низкое выявление *S. aureus* приходится на 2015 г. — при относительно высоком уровне MRSA. Микробная обсемененность операционных ран по сравнению со свищами на 29,1% ниже, частота встречаемости MRSA на 5,6% выше. Индуцибельная резистентность к клиндамицину штаммов из операционных ран составила 62,5%, что почти в 3 раза больше, чем у штаммов из свищей.

Важную роль в хронизации остеомиелита играют грамотрицательные микроорганизмы (*E. coli*, энтеробактеры, *P. aeruginosa* и др.), частота обнаружения которых в отделяемом из операционных ран составляет 22,5%, а в отделяемом из свищей — 17,1%.

Изучение этиологической структуры хронического остеомиелита и мониторинг антибиотикорезистентности возбудителя с последующей разработкой схемы антибиотикотерапии помогут принимать обоснованные решения как при консервативном, так и при хирургическом лечении остеомиелита.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 2, 9, 11 см. REFERENCES)

- Благун Л.А. Современные возможности антимикробной терапии раневых инфекций мягких тканей и остеомиелита. Антибиотики и химиотерапия. 2002; 47(9): 31—6.
- Винник Ю.С., Маркелова Н.М., Шагеев А.А. Хронический остеомиелит: диагностика, лечение, профилактика. Сибирское медицинское обозрение. 2009; (6): 12—5.
- Гостев В.В., Науменко З.С., Маргель И.И. Антибиотикорезистентность микрофлоры ран открытых переломов (II сообщение). Травматология и ортопедия России. 2010; (1): 33—7.
- Гайдышев И.П. Анализ и обработка данных: специальный справочник. СПб.: Питер; 2001.
- Карташова О.Л., Гандыбин Е.А., Уткина Т.М., Абрамзон О.М.,

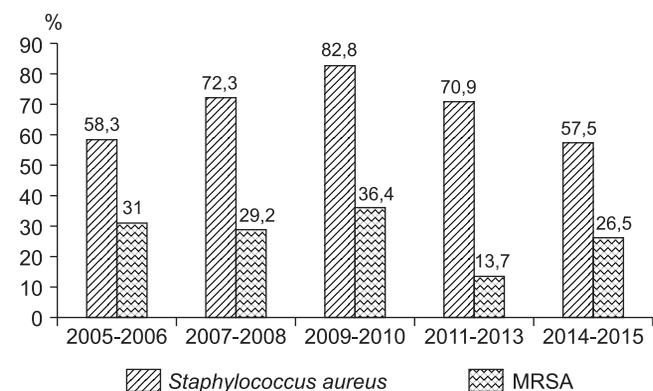


Рис. 4. Мониторинг выявления и метициллинрезистентность *Staphylococcus aureus*.

- Киргизова С.Б. Биологические свойства микроорганизмов в прогнозировании течения венозно-трофических язв нижних конечностей. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2009; (4): 111—4.
7. Белобородов В.Б., Митрохин С.Д. Стафилококковые инфекции. Инфекции и антимикробная терапия. 2003; 5(1): 12—8.
 8. Розова Л.В., Лапынин А.И., Ключин Н.М., Дегтярев В.Е. Микробный пейзаж при хроническом остеомиелите в условиях чрескостного остеосинтеза. Геней ортопедии. 2002; (1): 81—4.
 10. Розова Л.В., Годовых Н.В. Индуцибельный тип резистентности к клиндамицину среди стафилококков, выделенных у больных хроническим остеомиелитом. Успехи современного естествознания. 2015; (3): 70—3.
- Поступила 22.04.16
-
- REFERENCES
1. Blatun L.A. Modern possibilities of antimicrobial therapy of soft tissue wound infections and osteomyelitis. Antibiotiki i khimioterapiya. 2002; 47(9): 31—6. (in Russian)
 2. Wagner C., Kondella K., Bernschneider T., Heppert V., Wentzensen A., Hänsch G.M. Post-traumatic osteomyelitis: analysis of inflammatory cells recruited into the site of infection. Shock. 2003; 20(6): 503—10.
 3. Vinnik Yu.S., Markelova N.M., Shageev A.A. Chronic osteomyelitis: diagnosis, treatment, and prevention. Sibirskoe meditsinskoe obozrenie. 2009; (6): 12—5. (in Russian)
 4. Gostev V.V., Naumenko Z.S., Martel' I.I. Antibiotic resistance of open fracture wounds microflora (part II). Travmatologiya i ortopediya Rossii. 2010; (1): 33—7. (in Russian)
 5. Gaydyshev I.P. Analysis and Processing of Data: Special Manual [Analiz i obrabotka dannykh: spetsial'nyy spravochnik]. St.Petersburg: Piter; 2001. (in Russian)
 6. Kartashova O.L., Gandybin E.A., Utkina T.M., Abramzon O.M., Kirgizova S.B. The biological properties of microorganisms in predicting trophic ulcers of lower limb veins. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. 2009; (4): 111—4. (in Russian)
 7. Beloborodov V.B., Mitrokhin S.D. Staphylococcal infections. Infektsii i antimikrobnaya terapiya. 2003; 5(1): 12—8. (in Russian)
 8. Rozova L.V., Lapyunin A.I., Klyushin N.M., Degtyarev V.E. Microbial picture in chronic osteomyelitis in the conditions of transosseous osteosynthesis. Geniy ortopedii. 2002; (1): 81—4. (in Russian)
 9. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement M100-S17. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
 10. Rozova L.V., Godovykh N.V. Inducible type of resistance to gentamicin of staphylococci isolated from patients with chronic osteomyelitis. Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. 2015; (3): 70—3. (in Russian)
 11. Naumenko Z.S., Rozova L.V., Kliushin N.M. Dynamics of antibiotic resistance of Staphylococcus aureus isolated from chronic osteomyelitis patients. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. 2003; (2): 70—2.

Received 22.04.16

© МАВЗЮТОВ А.Р., МАВЗЮТОВА Г.А., 2016

УДК 616.36-002-022-078

Мавзютов А.Р., Мавзютова Г.А.

АЛГОРИТМЫ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПАРЕНТЕРАЛЬНЫХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 450077, г. Уфа, Российская Федерация

Рассмотрены методы лабораторной диагностики парентеральных вирусных гепатитов. Определены подходы, обеспечивающие однозначное дифференцирование инфицированных. Представлены различные методы оценки активности инфекционного процесса. Предложен алгоритм комплексного лабораторного обследования на парентеральные вирусные гепатиты (В, С, D, G, ТТ, SEN), обеспечивающий максимально информативный минимум лабораторных исследований и позволяющий быстро и однозначно интерпретировать полученные диагностические данные.

Ключевые слова: лабораторная диагностика; вирусные гепатиты В, С, D, G, ТТ, SEN.

Для цитирования: Мавзютов А.Р., Мавзютова Г.А. Алгоритмы этиологической лабораторной диагностики парентеральных вирусных гепатитов. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61(10):730-732. DOI: 10.18821.0869-2084-2016-61-10-730-732.

Mavzyutov A.R., Mavzyutova G.A.

THE ALGORITHMS OF ETIOLOGIC LABORATORY DIAGNOSTIC OF PARENTERAL VIRAL HEPATITIS

The Bashkirskii state medical university of Minzdrav of Russia, 450077 Ufa, Russia

The article considers methods of laboratory diagnostic of parenteral viral hepatitis. The approaches ensuring single-valued differentiation of infected patients are determined. The various methods of evaluation of activity of infection process are presented. The algorithm of complex laboratory analysis concerning presence of parenteral viral hepatitis (B, C, D, G, TT, SEN) was proposed to ensure maximal informative minimum of laboratory analyses permitting fast and single-valued interpretation of received diagnostic data.

Key words: laboratory diagnostic; viral hepatitis B, C, D, G, TT, SEN/.

For citation: Mavzyutov A.R., Mavzyutova G.A. The algorithms of etiologic laboratory diagnostic of parenteral viral hepatitis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2016; 61 (10): 730-732. (in Russ.). DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-10-730-732.

Для корреспонденции: Мавзютов Айрат Радикович, д-р мед. наук, зав. каф. фундаментальной и прикладной микробиологии, проф. каф. лабораторной диагностики ИДПО ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, e-mail: ufalab@mail.ru