

Использование статистических методов в анализе динамики видовой структуры микробных сообществ при ожоговой травме

© С.В. АНДРЕЕВА, Н.Э. ХАЙДАРШИНА, Д.Ю. НОХРИН

Кафедра микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия

РЕЗЮМЕ

Анализ динамики видовой структуры микробных сообществ в ходе течения раневой инфекции может вызывать серьезные сложности, поскольку на фоне антимикробной терапии в естественных поливидовых биопленках на поверхности ожоговых ран происходит смена видового состава возбудителей инфекции.

Цель исследования — демонстрация информативности методов описательной статистики, количественных методов микробной экологии и анализа зависимостей для изучения динамики микробных сообществ в ходе течения ожоговой болезни.

Материал и методы. В исследование были включены 57 пациентов, госпитализированных в Челябинский областной ожоговый центр, из ран которых было изолировано 595 штаммов условно-патогенных бактерий, выделенных в монокультуре или составе микробных ассоциаций. Для выявления стабильных ассоциаций и оценки зависимости локализации ожога и времени, прошедшего с момента травмы, использовали расчет индексов сходства Жаккара и канонический анализ соответствий. Динамику встречаемости микроорганизмов в ране оценивали в ходе регрессионного анализа с использованием обобщенной аддитивной модели для биномиального отклика.

Результаты. На примере анализа видового состава микробных сообществ ожоговых ран с 4-го по 30-й день ожоговой травмы установлено, что первичные контаминанты ран, характерные для нормальной микробиоты кожи (*Staphylococcus saprophyticus* и *Staphylococcus epidermidis*), сменялись на представителей микробиоты кишечника (*Escherichia coli* и *Proteus* spp.). Из ожогов области головы и туловища чаще выделяли *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, в микробиоте ожогов верхних конечностей преобладал *Staphylococcus epidermidis*. На присутствие в ранах таких стабильно доминирующих возбудителей гнойных осложнений, как *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, не влияли время с момента травмы и locus ожога. Выявлена высокая степень экологической общности *A. baumannii* — *S. aureus* (коэффициент Жаккара $C_j=0,442$; $n=95$; $p=0,001$) и *S. aureus* — *P. aeruginosa* ($C_j=0,430$; $n=93$; $p=0,05$). Отмечено, что смена видового состава микроорганизмов происходит в процессе антибиотикотерапии.

Выводы. Результаты проведенного исследования демонстрируют возможность использования методов описательной статистики, количественных методов микробной экологии и поиска зависимостей для изучения динамики микробного пейзажа.

Ключевые слова: ожоги, раны, индекс Жаккара, канонический анализ соответствий, обобщенная аддитивная модель.

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Андреева С.В., Хайдаршина Н.Э., Нохрин Д.Ю. Использование статистических методов в анализе динамики видовой структуры микробных сообществ при ожоговой травме. *Лабораторная служба*. 2019;8(1):65–72. <https://doi.org/10.17116/labs2019801165>

The use of statistical methods in the analysis of the dynamics of the species structure of microbial communities in the case of burn injury

© S.V. ANDREEVA, N.E. KHAYDARSHINA, D.YU. NOKHRIN

Department of microbiology, immunology and general biology FGBOU VO Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

ABSTRACT

An analysis of the dynamics of the specific structure of microbial communities during wound infection can cause serious complications, since against the background of antimicrobial therapy in the natural multi-species biofilms, a change in the species composition of infectious agents occurs on the surface of the burn wound.

The aim of the work is to demonstrate the informative nature of the methods of descriptive statistics, quantitative methods of microbial ecology and analysis of dependencies for studying the dynamics of microbial communities during a burn disease.

Material and methods. The study included 57 patients hospitalized in the Chelyabinsk Regional Burn Center, from whose wounds 595 strains of opportunistic bacteria isolated in monoculture or in microbial associations were isolated. To determine stable associations and assess the dependence of the localization of the burn and the time elapsed since the injury, the calculation of the Jacquard similarity indexes and the canonical analysis of the correspondences were used. The dynamics of the occurrence of microorganisms in the wound was evaluated in the course of regression analysis using the generalized additive model for the binomial response.

Results. On the example of the analysis of the species composition of microbial communities of burn wounds from 4 to 30 day of burn injury, it was established that the primary contaminants of wounds characteristic of normal skin micro biota (*Staphylococcus saprophyticus* and *Staphylococcus epidermidis*) were replaced by representatives of the intestinal microbiota (*Escherichia coli* and *Proteus* spp.). From the burns of the region of the head and trunk, *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella pneumoniae* were more often isolated, *Staphylococcus epidermidis* prevailed in the micro biota of upper extremity burns. The presence of such stably dominant pathogens of purulent complications such as *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* did not affect the time in the wounds from the moment of injury and the locus of the burn. A high degree of ecological community of *A. baumannii* — *S. aureus* (Jacquard coefficient $C_j=0.442$, $n=95$, $p=0.001$) and *S. aureus* — *P. aeruginosa* ($C_j=0.430$, $n=93$, $p=0.05$). It was noted that the change in species composition of microorganisms occurs in the process of antibiotic therapy.

Conclusions. The results of the study demonstrate the possibility of using descriptive statistics methods, quantitative methods of microbial ecology and searching for dependencies to study the dynamics of microbial landscape.

Keywords: burns, wounds, Jaccard's Index, canonical analysis of correspondences, generalized additive model.

TO CITE THIS ARTICLE:

Andreeva SV, Kaydarshina NE, Nokhrin DYu. The use of statistical methods in the analysis of the dynamics of the species structure of microbial communities in the case of burn injury. *Laboratory Service=Laboratornaya sluzhba*. 2019;8(1):65–72. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/labs2019801165>

Введение

Термические травмы являются серьезной медицинской, экономической и социальной проблемой здравоохранения, при этом основной причиной летальности пострадавших от ожогов остается ожоговая инфекция. Ввиду обилия некротических масс и постоянно пополняющегося запаса питательных веществ, диффундирующих из плазмы, ожоговая рана является оптимальной средой для размножения микроорганизмов. Первичная колонизация ожоговой поверхности происходит уже в первые часы после травмы, либо она изначально является обсемененной. Видовой состав контаминантов ожоговых ран разнообразен, поскольку источники микробной контаминации могут быть как эндогенного происхождения (необожженная кожа, желудочно-кишечный тракт пациента), так и экзогенного генеза (контаминированные руки, ротоглотка и одежда медицинского персонала; катетеры и другие медицинские устройства) [1]. Следующий этап инфекционного процесса сопровождается формированием на поверхности раны сложных, взаимодействующих между собой сообществ микроорганизмов, заключенных в экстрацеллюлярный полимерный матрикс — биопленки [2, 3]. При моделировании инфекционного процесса на ранах свиней было доказано, что образование зрелых биопленок происходит через 48 ч после заражения [4]. Созревание биопленки и последующая дисперсия бактерий, распространяющихся с кровотоком по всему организму, приводят к генерализации инфекционного процесса, развитию тяжелых вторичных осложнений ожоговой болезни (плевропневмония, эндокардит, менингоэнцефалит, сепсис), увеличивают риск инвалидизации и смертности пациентов [2, 3].

Биопленка на поверхности раны, как правило, поливидовая. Естественно, что между членами микробных сообществ в биопленке устанавливаются сложные межвидовые взаимоотношения, которые могут быть антагонистическими, например конкуренция за питательные вещества и торможение роста других членов биопленки, или синергетически — содействие формированию биопленки путем совместной агрегации и метаболического сотрудничества, когда один вид использует метаболит, продуцируемый соседними видами [5–7]. Примером антагонистических способностей является способность, установленная у ассоциации *Staphylococcus aureus* с *Pseudomonas aeruginosa*, продуцировать бактериоцины, ингибирующие рост представителей кишечной и кожной микробиоты. Подробный анализ нескольких наблюдений *in vitro* и *in vivo* показал, что *S. aureus* демонстрирует кооперативные отношения с *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* и *Haemophilus influenzae* и конкурентные отношения с *P. aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Lactobacillus* spp. и *Corynebacterium* spp. Однако, несмотря на наличие обоих типов взаимоотношений, *P. aeruginosa*, *H. influenzae*, *E. faecalis*, *S. pneumoniae* и *C. albicans* могут восстановить свои патогенные свойства с помощью *S. aureus*. Межвидовые взаимодействия влияют на интенсивность роста микроорганизмов, экспрессию белка, патогенность и восприимчивость к антибиотикам [8].

Ввиду сложных межмикробных взаимоотношений анализ данных по динамике видового состава в ходе течения раневой инфекции вызывает серьезные сложности. При описании видовой структуры микробных сообществ ожоговых ран обычно определяют только качественные и количественные показатели микробной колонизации, без учета специфики видовых взаимодействий и смены сообществ

микроорганизмов в динамике ожоговой болезни и антибиотикотерапии. Вместе с тем ясно, что для проведения адекватного мониторинга видовой структуры микробных сообществ требуется использование соответствующих статистических методов.

Цель исследования — демонстрация информативности методов описательной статистики, количественных методов микробной экологии и анализа зависимостей для изучения динамики микробных сообществ в ходе течения ожоговой болезни с учетом характера микробной контаминации различных локусов тела и антибиотикочувствительности возбудителей ожоговой инфекции.

Материал и методы

В исследование были включены 57 пациентов в возрасте от 18 до 54 лет, госпитализированных в Челябинский областной ожоговый центр в период с 2014 по 2017 г. Травмы отобранных больных характеризовались термическим происхождением, поверхностным расположением, локализацией на одном или одновременно нескольких топографических участках тела, отсутствием поражений дыхательных путей, глубиной 2—3-й степени, площадью от 12 до 40%. Продолжительность пребывания в стационаре каждого больного составляла 4—30 сут.

Всего исследовано 545 проб раневого отделяемого. Количество проб от одного пациента варьировало от 2 до 29, модальное значение (квартили) 7 (4—13) проб. Микробиологическое исследование раневого материала проводили в соответствии с требованиями приказа №535 Минздрава России «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Из полученных проб было изолировано 595 штаммов условно-патогенных бактерий, выделенных в монокультуре или составе микробных ассоциаций. Определение чувствительности выделенных штаммов к антибиотикам и фенотипическое определение маркеров антибиотикорезистентности проводили дискодиффузионным методом в соответствии с клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версия 2015.02).

В ходе статистического анализа данных применяли методы описательной статистики, количественные методы микробной экологии и анализ зависимостей. При описании данных встречаемость микроорганизмов и количество чувствительных к антибиотикам штаммов выражали в относительных частотах с 95% доверительными интервалами (95% ДИ), вычисленными методом Джеффриса [9]. Среднее количество микроорганизмов с 95% ДИ рассчитывали по предварительно логарифмированным данным с последующей ретрансформацией результатов в исходную

шкалу. При этом 95% ДИ рассчитывали с помощью процедуры бутстрепа (метод ВСа, $n=99\ 999$). Для выявления ассоциаций микроорганизмов, а также оценки влияния на них локализации ожога и времени, прошедшего с момента травмы, использовали расчет индексов сходства Жаккара (C_j) и канонический анализ соответствий (КАС). Статистическую значимость C_j оценивали с использованием таблиц критических значений [10], а выделяемых КАС размерностей — в рандомизационном тесте Монте-Карло ($n=99\ 999$). Динамику изменения встречаемости микроорганизмов в ране оценивали в ходе регрессионного анализа с использованием обобщенной аддитивной модели (General Additive Model — GAM) для биномиального отклика. Во всех случаях обнаруженные эффекты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$, незначимыми при $p > 0,10$. Расчеты и графические построения выполнены в программно-статистической среде R (v.3.0.3) [11] и пакетах PAST (v. 3.15;) [12], mgsv [13] и TrX (v.1.5) [14].

Результаты и обсуждение

Анализ спектра возбудителей инфекций ожоговых ран. Анализ спектра микроорганизмов является стандартной процедурой, позволяющей выявлять основных возбудителей инфекции, в отношении которых в первую очередь должно быть направлено терапевтическое воздействие. Чаще всего такие спектры изображают на круговых диаграммах, снабженных численными значениями частот встречаемости (в %). Более информативным средством изображения спектра является диаграмма, на которой частоты встречаемости снабжены 95% ДИ. Если 95% ДИ для двух частот не перекрываются, значит различия между ними статистически значимы: $p \leq 0,05$ (обратное не всегда верно).

Существует несколько методов расчета ДИ для частот. Наиболее рекомендуемые методы: байесовский метод Джеффриса, метод Уилсона, метод Агрести—Коулла. Традиционен, но несколько более консервативен точный метод Клоппера—Пирсона. Все эти методы дают близкие значения ДИ, причем для не слишком больших выборок ДИ визуально имеют положительную асимметрию в области 0—30% и отрицательную — в области 70—100%. В то время как описанный во всех учебниках по статистике метод Вальда в настоящее время не рекомендуется использовать даже для больших выборок [9].

Анализ микробного пейзажа ожоговых ран (рис. 1) показал, что в составе раневой микробиоты доминировали *P. aeruginosa* и *S. aureus*. Статистически значимо реже из ран выделяли *A. baumannii*, а удельный вес других микроорганизмов был статистически значимо меньше и не столь существен (0,3—4,9%). Лидирующая роль *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *A. baumannii* в возникновении инфекций ожоговых ран отмечена и другими авторами [15, 16].

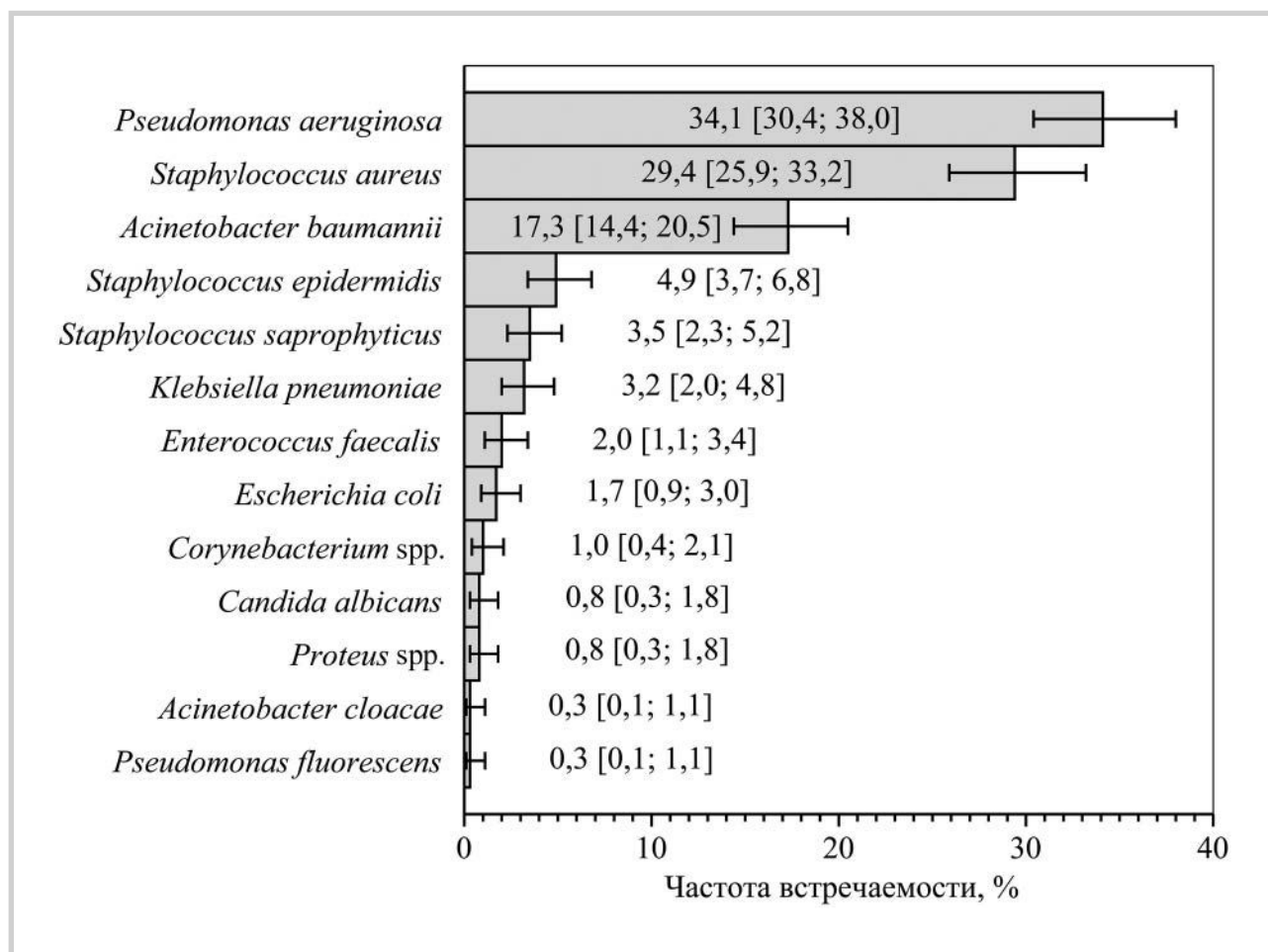


Рис. 1. Частота выделения микроорганизмов из ожоговых ран с 2014 по 2017 г. (n=595).

Зависимость микробного пейзажа ран от локуса ожога и времени с момента травмы. Учитывая, что микробный пейзаж ожоговой раны может варьировать в зависимости от локуса ожога и времени с момента травмы, нами был применен многомерный эксплораторный анализ — КАС. Подобно анализу главных компонент данный метод также осуществляет редукцию данных с обобщением, однако работает с величинами, удобной мерой расстояния между которыми является статистика χ^2 . Так как к таким величинам относятся численности, данный метод нашел широкое применение в экологии сообществ [17]. В отличие от обычного множественного анализа соответствий в КАС объясняется не вся присущая данным изменчивость, а лишь та ее часть, которая задается набором инструментальных переменных, — как в регрессионном анализе. В качестве последних в нашем случае выступали время с момента ожога и его локализация.

В ходе анализа было получено 5 канонических осей, из которых статистически значимыми были только первые две размерности ($p=0,0002$ и $p=0,0003$ соответственно). Они почти целиком объясняли изменчивость (в терминологии КАС — инерцию, в %)

встречаемости микроорганизмов в ранах, обусловленную временем и локализацией: $67,8+23,7=91,5$. На рис. 2 представлена сдвоенная (biplot) ординационная диаграмма, на которой и микроорганизмы (точки), и инструментальные переменные (векторы) расположены в пространстве двух первых осей. Направление векторов в одну сторону от нуля для данной оси указывает на положительную корреляцию между показателями, а в разные стороны от нуля — на отрицательную.

Первая ось объясняла 67,8% инерции набора данных по встречаемости микроорганизмов и обобщала динамику изменения микробного пейзажа раны во времени. По проекциям координат микроорганизмов на ось 1 видно, что первичные контаминанты ран, характерные для нормальной микрофлоры кожи (*Staphylococcus saprophyticus* и *Staphylococcus epidermidis*), в течение времени сменялись на представителей нормальной микрофлоры кишечника (*Escherichia coli* и *Proteus spp.*). Проанализировав данные о чувствительности раневой микрофлоры к антибиотикам, мы установили, что на смену микробного пейзажа ран в динамике ожоговой инфекции

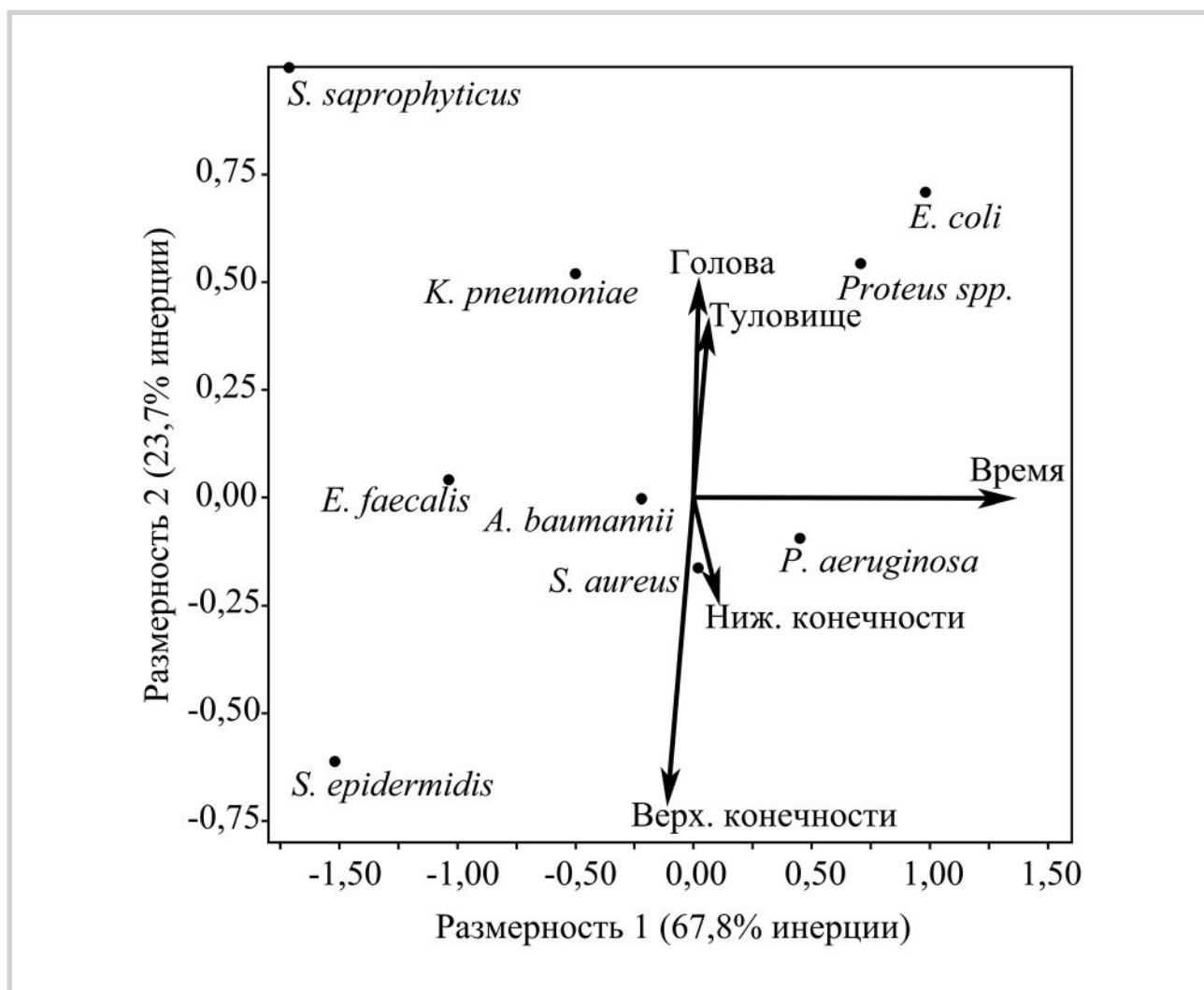


Рис. 2. Изменчивость встречаемости микроорганизмов в ранах, обусловленная временем и локализацией ожога, полученная в ходе КАС.

решающее значение оказывала антибиотикотерапия. Рост первичных контаминантов ран, относящихся к грамположительной микрофлоре кожи (*S. saprophyticus* и *S. epidermidis*), эффективно подавляли β-лактамы антибиотики, используемые в ожоговом отделении в качестве стартовой терапии: все выделенные из ожоговых ран в течение первых дней госпитализации штаммы *S. saprophyticus* и *S. epidermidis* были чувствительны к цефоперазону/сульбактаму и цефепиму — 91,7% (95% ДИ 84,3—98,4), ампициллину — 93,2% (95% ДИ 86,1—100) к амоксициллину/клавуланату. Однако указанные антибиотики были неэффективны в отношении энтеробактерий, высевающихся из ожоговых ран через 1 нед госпитализации. Использованные фенотипические методы детекции маркеров антибиотикорезистентности позволили установить у всех исследованных раневых изолятов *Klebsiella pneumoniae* и *E. coli* наличие β-лактамаз расширенного спектра, обеспечивающих бактериям устойчивость ко всем β-лактамам, кроме

азтреонама. Смена грамположительной микрофлоры на грамотрицательную и увеличение доли антибиотикорезистентных энтеробактерий среди возбудителей раневой ожоговой инфекции отмечены и другими исследователями [18].

Вторая ось (см. рис. 2) объясняла 23,7% инерции. Вдоль нее проявились различия в микробном пейзаже ран головы и туловища, с одной стороны, и ран конечностей — с другой. Видно, что векторы головы и туловища практически совпадали, что указывает на очень сходный характер микробной контаминации ожогов этих частей тела. В целом в ожоговых ранах головы и туловища было больше *S. saprophyticus*, *E. coli*, *Proteus spp.*, *K. pneumoniae* и, напротив, практически отсутствовал *S. epidermidis*, более характерный для ожогов верхних конечностей. На присутствие в ранах *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* время и локализация ожога влияли очень слабо, что видно по их расположению вблизи точки начала координат. Этот факт можно объяснить тем, что для *S. aureus*,

P. aeruginosa и *A. baumannii* характерно госпитальное происхождение, поэтому локус ожога для них не имеет значения.

Выявление ассоциаций микроорганизмов в ожоговых ранах. Так как из ран часто выделяются смешанные популяции микроорганизмов, далее мы попытались обнаружить устойчивые ассоциации микроорганизмов в ожоговых ранах с использованием методов микробной экологии — путем расчета такого показателя экологической общности, как C_j . Он вычисляется по четырехпольной таблице частот, входами в которую являются наличие и отсутствие первого и второго видов, а частоты представляют собой количество соответствующих местообитаний (в нашем случае штаммов). В отличие от других популярных коэффициентов ассоциации для таблиц 2×2 (Крамера, Чупрова, сопряженности Пирсона, фи, Юла и др.) C_j не учитывает в расчетах ячейку отсутствия обоих видов: он представляет собой отношение числа проб, содержащих одновременно два вида, к числу проб, содержащих хотя бы один из них. Таким образом, исключается ситуация, когда виды могут оказаться сходными только потому, что не встречаются в большинстве местообитаний. Коэффициент C_j изменяется от 0 (отсутствие совместной встречаемости организмов) до 1 (исключительно совместная встречаемость).

С помощью C_j удалось выявить только две статистически значимые ассоциации: *A. baumannii* — *S. aureus* ($C_j=0,442$; $n=95$; $p=0,001$) и *S. aureus* — *P. aeruginosa* ($C_j=0,430$; $n=93$; $p=0,050$). Слабую ассоциацию демонстрировали также *A. baumannii* и *P. aeruginosa* ($C_j=0,300$; $n=100$; $p>0,05$). Таким образом, результаты поиска ассоциаций оказались близки как к результатам простого анализа встречаемости, так и к КАС: в ожоговых ранах выявлены ассоциации, образованные различными сочетаниями трех видов бактерий: *S. aureus*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa*.

Анализ динамики выделения из ожоговых ран приоритетных возбудителей ожоговой инфекции. Учитывая, что КАС не выявил зависимости частоты выделения трех доминирующих видов бактерий от времени, прошедшего с момента травмы, был проведен регрессионный анализ с использованием GAM, которая является непараметрическим расширением обобщенных линейных моделей и обычно используется в случаях, когда тип зависимости заранее не известен. GAM имеет ряд статистических преимуществ перед другими способами сглаживания нелинейных зависимостей, включая возможность учета природы данных (разные семейства распределений) и относительно небольшую ошибку модели при ее сложности. Были использованы модели для биномиального отклика (наличие или отсутствие микроорганизма), подгонка которых проведена с использованием пакета `mgcv` для программно-статистической среды R [22].

На рис. 3 представлены динамики изменения встречаемости в ожоговых ранах доминирующих возбудителей ожоговой инфекции. Поскольку и по частоте выделения, и по форме зависимости динамика для разных локализаций ожогов была очень сходной, данные по ним были объединены, а полученная регрессионная зависимость снабжена 95% доверительными границами (см. рис. 3, слева). Эти границы позволяют судить о статистической значимости наблюдаемой формы нелинейной зависимости. Видно, что каждый из рассматриваемых микроорганизмов демонстрировал собственную, отличную от других динамику: *S. aureus* заселяет рану в течение первых дней и к 7–9-м суткам госпитализации его встречаемость достигает максимума. По полученным данным, все выделенные из ран после 2 нед госпитализации изоляты *S. aureus* были метициллин-резистентными (*MRSA*), устойчивостью к амикацину обладали 88,6% (95% ДИ 82,5–96,8), к ципрофлоксацину — 87,9% (95% ДИ 82,2–94,2), к линкомицину — 86,3% (95% ДИ 79,2–89,4) и эритромицину — 90,1% (95% ДИ 77,2–100). Устойчивых к ванкомицину *S. aureus* не выявлено. Как видно на рис. 3, после 26 дней госпитализации частота индикации в ранах *S. aureus* резко снизилась, так как пациентам, из ран которых были выделены *MRSA*, назначали ванкомицин.

Изучение динамики заселения ожоговой раны неферментирующими грамотрицательными бактериями показало, что для *A. baumannii* была характерна нелинейная динамика: к 20-му дню частота выделения этого вида в ране резко снижалась, однако после 20-го дня госпитализации начинался новый подъем индикации данного вида. Возможно, этот факт связан с конкурентными взаимоотношениями *A. baumannii* с *S. aureus*, встречаемость которой на 20-й день госпитализации была максимальной. В свою очередь *P. aeruginosa* колонизировала рану после 10–14-х суток госпитализации, после 2–3 нед ее индикация в ранах была максимальной и практически выходила на плато. Изучение чувствительности к антибиотикам у *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, выделяющихся из ожоговых ран после 2 нед госпитализации, подтвердило их полирезистентность. Способность продуцировать металло-β-лактамазы (МБЛ) была выявлена у 89,7% (95% ДИ 80,4–98,1) *P. aeruginosa*, поэтому при лечении инфекций, вызванных такими штаммами, следует исключить все β-лактамы и карбапенемы. Резистентность *P. aeruginosa* к амикацину и ципрофлоксацину также сохранялась на высоком уровне — 90,6% (95% ДИ 87,4–98,1) и 89,7% (95% ДИ 81,0–96,1) соответственно. Все изоляты *A. baumannii*, выделенные из ран после 2-недельной госпитализации, были устойчивы к ципрофлоксацину и амикацину, наличие МБЛ отмечено в 85,3% случаев (95% ДИ 78,6–92,8).

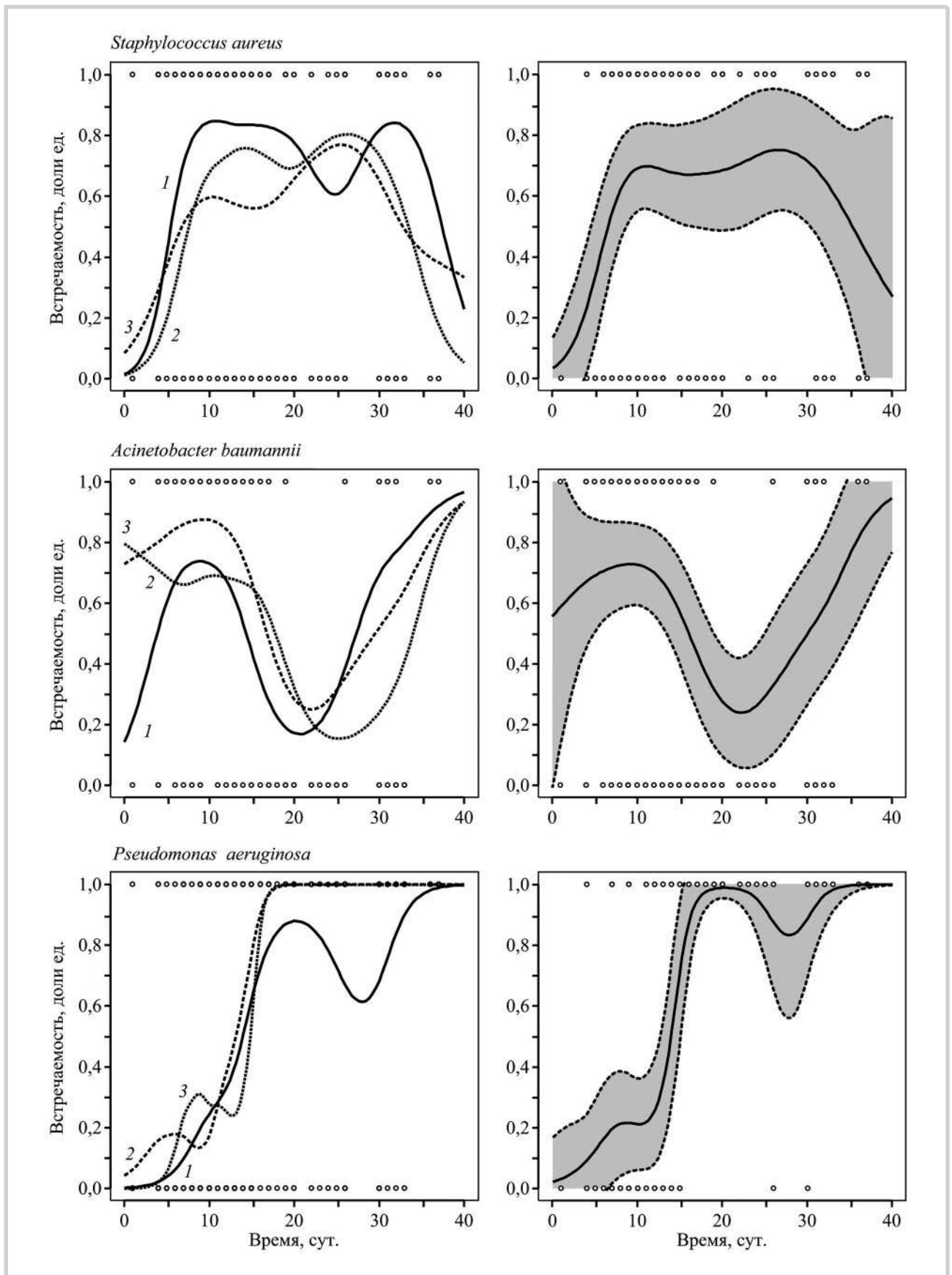


Рис. 3. Обобщенные аддитивные модели динамики изменения встречаемости доминирующих патогенов. Локализация: 1 — голова, 2 — туловище, 3 — верхние конечности. Серая зона — 95% ДИ.

Заключение

На фоне антимикробной терапии в естественной поливидовой биопленке на поверхности ожоговой раны происходит смена видового состава возбудителей инфекции. Результаты проведенного исследования демонстрируют возможность использования методов описательной статистики, количественных методов микробной экологии и поиска за-

висимостей для изучения динамики микробного пейзажа.

Благодарности. Авторы статьи выражают благодарность заведующей кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии, декану биологического факультета ФГБОУ ВО «ЧелГУ» А.Л. Бурмистровой и заведующей лабораторией МБУЗ ГКБ №6 Челябинска Л.И. Бахаревой за помощь в организации работы и выполнении лабораторных исследований.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sarabahi Sujata. Burn Wound Infection. In: Tiwari VK, Goel Arun, Gupta LC. *Principles and practice of burn care*. New Delhi: JP Medical Publishers, 2010;241-260.
https://doi.org/10.5005/jp/books/11164_20
2. Percival SL. Biofilms in Infection Prevention and Control. *A Healthcare Handbook*. Academic Press, 2014;127-139.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-397043-5.00008-6>
3. Cooper RA, Bjarnsholt T, Alhede M. Biofilms in wounds: a review of present knowledge. *Journal of Wound Care*. 2014; 23(11):570-582.
<https://doi.org/10.12968/jowc.2014.23.11.570>
4. Davis SC, Ricotti C, Cazzaniga A, Welsh E, Eaglstein WH, Mertz PM. Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization in vivo. *The international journal of tissue repair and regeneration*. 2008;16(1):23-29.
<https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2007.00303.x>
5. James G, Swogger E, DeLancey-Pulcini E. *Microbial Ecology of Human Skin and Wounds*. Springer Berlin Heidelberg. 2009;1-14.
https://doi.org/10.1007/7142_2008_3
6. Omar A, Wright JB, Schultz G, Burrell R, Nadworny P. Microbial Biofilms and Chronic Wounds. *Microorganisms*. 2017;5(1):9.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms5010009>
7. Elias S, Banin E. Multi-species biofilms: living with friendly neighbors. *FEMS Microbiology Reviews*. 2012;36(5):990-1004.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00325.x>
8. Nair N, Biswas R, Gotz F, Biswas L. Impact of Staphylococcus aureus on Pathogenesis in Polymicrobial Infections. *Infection and Immunity*. 2014;82(6):2162-2169.
<https://doi.org/10.1128/iai.00059-14>
9. Brown LD, Cai TT, Das Gupta A. Interval Estimation for a proportion. *Statistical Science*. 2001;16(2):101-133.
<https://doi.org/10.1214/ss/1009213286>
10. Real R. Tables of Significant Values of Jaccard's Index of Similarity. *Miscellanea Zoologica*. 1999;22(1):29-40.
11. Ripley BD. The R Project for Statistical Computing. *MSOR Connections*. 2001;1(1):23-25.
<https://doi.org/10.11120/msor.2001.01010023>
12. Hammer O, Harper DAT, Ryan PD. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*. 2001;4(1):1-9.
13. Wood SN. Just Another Gibbs Additive Modeler: Interfacing JAGS and mgcv. *Journal of Statistical Software*. 2016;75(7).
<https://doi.org/10.18637/jss.v075.i07>
14. ТрХ: TeX drawing tool. ТрХ Project Homepage Accessed July 12, 2018. <http://tpx.sourceforge.net/>
15. Essayagh T, Zohoun A, Tourabi K, Ennouhi MA, Boumaarouf A, Ibrai AH, Elhamzaoui S. Burn unit: colonization of burn wounds and local environment. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2012;18(4):296-300.
<https://doi.org/10.5505/tjtes.2012.26928>
16. Keen EF, Robinson BJ, Hospenthal DR, Aldous WK, Wolf SE, Chung KK, Murray CK. Incidence and bacteriology of burn infections at a military burn center. *Burns*. 2010;36:461-468.
<https://doi.org/10.1016/j.burns.2009.10.012>
17. Джонгман Р.Г.Г., Тер Браак С.Дж.Ф., Ван Тонгерен О.Ф.Р. Анализ данных в экологии сообществ и ландшафтов. М.: РАСХН, 1999;306.
Jongman RGG, Ter Braak CJF, van Tongeren OFR. *Data analysis in community and landscape ecology*. М.: RASHN, 1999;306. (In Russ.)
18. 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;12:191-194.
Gordinskaya NA, Sabirova EV, Abramova NV, Dudareva EV, Nekaeva ES. Role of Enterobacteriaceae family microorganisms in etiology of wound burn infection. *Fundamental research*. 2013;12:191-194. (In Russ.)
<https://doi.org/10.17513/fr>
19. Wood SN. *Generalized Additive Models: An Introduction with R, Second Edition*. CRC Textbook; 2017.

Поступила в редакцию 27.07.18

Received 27.07.18

Принята к печати 29.12.18

Accepted 29.12.18