

УДК 576.8.06:616-089.166-001.4:617-022

МИКРОБИОЦЕНОЗ ОПЕРАЦИОННОЙ РАНЫ И ЕГО ЗАВИСИМОСТЬ ОТ КЛАССА

Шаркова В.А., Лайман Е.Ф., Баранова Н.А.

ГБОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет»

Минздравсоцразвития России, Владивосток, e-mail: VGMU.nauka@mail.ru;

Лесозаводский филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае».

п. Кировский Приморского края, e-mail: kirovka@fguzpk.ru

Представлены результаты изучения микробиоценоза операционной раны и его зависимости от класса раны (операции). Идентифицировано 78 штаммов микроорганизмов, изолированных из операционных ран. Изоляты отнесены к 12 родам и 25 видам. Ведущее место среди выделенных микроорганизмов занимали бактерии семейств Micrococcaceae (Staphylococcus spp, Micrococcus spp) и Enterobacteriaceae (E. coli). Они имели наибольший показатель флористической значимости и плотность распределения, которая к IV классу ран увеличивалась с уменьшением числа видов. С увеличением класса ран отмечено нарастание их контаминации с $41,8 \pm 5,2\%$ в «условно-чистых» до $45,9 \pm 8,2\%$ в «загрязненных» и $52,9 \pm 12,5\%$ в «грязных». Микроорганизмы, обнаруженные в ранах, отнесены к группе эпизодически встречающихся или случайных, (показатель постоянства ниже 25%). Индекс видового разнообразия был выше в 9,3 раза во II классе ран (операций), чем в III классе ран (операций) и в 7 раз выше, чем в IV классе. Указано на необходимость изучения микробиоценоза операционной раны как одного из этапов решения проблемы ПОИ.

Ключевые слова: микроорганизмы, операционная рана, класс раны (операции), послеоперационная инфекция

MICROBIOCENOSIS OF THE OPERATIONAL WOUND AND ITS DEPENDENCE ON THE CLASS

Sharkova V.A., Laiman E.F., Baranova N.A.

Vladivostok State Medical University, Vladivostok, e-mail: VGMU.nauka@mail.ru;

Lesozavodskskifiliasion FSOH «Center of hygiene and epidemiology in Primorsky region»,

Kirovsky, e-mail: kirovka@fguzpk.ru

Here are represented the results of the research of microbiocenosis of an operative wound and its dependence on the wound class (operation). 78 strains of microorganisms, isolated from operative wounds are identified. The isolates are referred to 12 genera and 25 species. The leading place among the identified microorganisms take the bacteria families Micrococcaceae (Staphylococcus spp, Micrococcus spp) and Enterobacteriaceae (E. coli). They have the highest indicator of floristical significance and distribution density, which increases up to wound class IV along with the decrease of the number of species. Along with the increase of wound classes the decrease of their contamination from $41,8 \pm 5,2\%$ in «clean-contaminated» wounds up to $45,9 \pm 8,2\%$ in «contaminated» wounds and up to $52,9 \pm 12,5\%$ in «dirty» wounds is noticed. The microorganisms found in wounds are referred to a group of episodically occurred or transitory (continuous rate less than 25%). The index of the species variety is 9,3 times as high in wound (operation) class II as that in wound (operation) class III and 7 times as high as that in wound class VII. It is proved to study microbiocenosis of an operative wound as one of the stages of solving POI problem.

Keywords: microorganism, operative wound, wound class (operation), postoperative infection

Послеоперационные инфекции (ПОИ) занимают одно из первых мест среди наиболее часто встречающихся внутрибольничных инфекций и являются ведущей причиной заболеваемости и смертности. В структуре регистрируемых в России, США и большинстве стран Европы внутрибольничных инфекций на долю ПОИ приходится до 40% и более [1, 11]. Эти инфекции осложняют течение основного заболевания, являются причиной тревоги для врачей и пациентов, и могут привести к смерти последних [2, 10]. Достаточно репрезентативные данные о частоте хирургических инфекций в России практически отсутствуют [3].

Для стандартизации риска послеоперационных инфекций и обеспечения возможности сравнения результатов различных исследований выделяют четыре типа (класса)

хирургических вмешательств, различающихся по степени риска: «чистые» операции – I класс, «условно чистые» операции – II класс, «загрязненные» (контаминированные) – III класс, «грязные» операции – IV (оперативные вмешательства на заведомо инфицированных органах и тканях при наличии сопутствующей или предшествующей инфекции) [1]. Соответственно риск послеоперационных инфекционных осложнений с ростом класса ран увеличивается.

Многочисленные исследования свидетельствуют, что даже при идеальном соблюдении принципов асептики полностью избежать контаминации хирургических ран во время операции не удастся [1, 12], поэтому важно определить микробный состав операционной раны для профилактики, лечения ПОИ. Инфекционный процесс в ране может быть вызван не только патогенной

микрофлорой или условно-патогенной, но и непатогенной флорой, что повышает значимость любых микроорганизмов, присутствующих в операционной ране. Микрофлорой, вызывающей инфекции в области хирургического вмешательства (ИОХВ), по данным национальной системы эпидемиологического надзора в США, Британии, являются стафилококки и кишечные бактерии. Значительно возросла и роль неферментирующих грамотрицательных бактерий *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Flavobacterium* spp., *Alcaligenes* spp. [2, 3, 8].

В литературе до настоящего времени отсутствует целостная оценка микробиоценоза операционной раны в рамках единых микрoэкологических подходов. Целью нашей работы явилось изучение микробиоценотической характеристики операционной раны, ее зависимости от класса.

Материалы и методы исследования

Исследован материал, взятый от 147 пациентов в количестве 290 проб (отделяемое операционной раны и смыв с подкожно-жировой клетчатки (пжк)). Взятие материала для исследования осуществлялось во время операции в асептических условиях с использованием стерильных марлевых тампонов, помещаемых в транспортные среды отдельно для аэробов и анаэробов. Посевы и культивирование материала осуществляли на расширенном наборе дифференциально-диагностических и селективных сред, в аэробных и анаэробных условиях в соответствии с требованиями приказа МЗ № 535 от 22.04.1985 г. Выделенные штаммы микроорганизмов идентифицировали согласно рекомендациям «Определителя бактерий Берджи» с использованием диагностических наборов («Микроген», «НИЦФ», производства НИИ ЭМ им. Пастера, «Лаксма»). Количественный учет плотности популяции различных групп микроорганизмов проводили путем подсчета числа колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 см² поверхности.

Экологический анализ микропейзажа операционной раны осуществляли путем изучения его структуры и функциональных характеристик с использованием показателей: индекса встречаемости, индекса значимости, показателя видового разнообразия [4, 5, 6, 7, 9, 10].

Индекс встречаемости различных таксонов, формирующих микрофлору операционной раны, использовали для выяснения структуры симбиотических взаимоотношений, рассчитывали по формуле: $C = p \cdot 100 / P$, где C – индекс встречаемости; p – число проб, в которых обнаружены особи исследуемого вида; P – общее число проанализированных проб. В зависимости от полученных значений все таксоны подразделяли на доминантные или постоянные ($C > 50\%$), редкие или добавочные ($25\% < C < 50\%$) и эпизодически встречающиеся или случайные ($C < 25\%$).

Значимость экологических групп изучали с помощью индекса флористической значимости (Наткевичайте-Иванаускаене И.П., 1985), который характеризует количественные соотношения встречаемости определенных типологических групп микроорганизмов: $V = 100g/nmz$, где V – индекс значимости; g – суммарный показатель встречаемости видов; n – чис-

ло биопроб; m – среднее число видов в биопробе; z – число видов в данной группе.

Видовое разнообразие микробиоценоза операционной раны рассчитывали с помощью показателя видового разнообразия Сытника С.И. (1989) по формуле $d = s/n$, где d – видовое разнообразие; s – количество видов; n – общая плотность бактерий.

Результаты исследований и их обсуждение

У 62 пациентов из 147 обследованных (42,2%) выделено 78 штаммов микроорганизмов, отнесенных к 11 родам и 24 видам, многие из которых (род *Escherichia*, род *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Candida*, *Bacillus*) оказались лишь одного вида, некоторые выделялись в виде одиночных штаммов (*C. crusei*, *B. mesentericus*, *E. quercina*, *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*). По частоте выделения в моноэтиологической и ассоциативной формах, суммарно, микроорганизмы заняли следующий по убывающей ранговый ряд: бактерии рода *Staphylococcus* ($58,9\% \pm 5,6$, 11 видов – *S. epidermidis* ($19,1 \pm 4,5\%$), *S. haemolyticus* ($15,3 \pm 4,1\%$), *S. intermedius* ($8,9 \pm 3,2\%$), *S. saprophyticus* ($5,1 \pm 2,5\%$), *S. kloosii* ($2,6 \pm 1,8\%$) и прочие в единичных случаях по ($1,3 \pm 1,3\%$), представители семейства *Enterobacteriaceae* (5 видов – $28,2 \pm 5,1$, в том числе *E. coli* – $14,1 \pm 3,9\%$, *E. aerogenes* ($7,6 \pm 3,0\%$), *C. diversus* ($2,6 \pm 1,8\%$) и прочие по $1,3 \pm 1,3\%$). Интересно, что бактерии *E. aerogenes* встречались в течение 1 месяца, при операциях кесарева сечения в 4 случаях, в трех в ассоциации с бактериями рода *Staphylococcus*. Представители рода *Micrococcus* (4 вида – $5,1 \pm 2,5\%$): *M. atlantae*, *M. roseus*, *M. agilis*, *M. nishinomiyaensis* по $1,3 \pm 1,3\%$ занимали четвертое место в таксономическом ранжире. Немногочисленным было представительство *Alcaligenes* spp., *Acinetobacter* spp. – по $2,6 \pm 1,8\%$, *C. crusei*, *B. mesentericus* по $1,3 \pm 1,3\%$ (рис. 1).

Обращает внимание присутствие в операционных ранах большого количества ассоциаций микроорганизмов ($24,2 \pm 5,4\%$), в основном в виде диформ – $22,6 \pm 5,3\%$. Микрофлора ассоциаций была представлена *Staphylococcus* spp. в $51,6 \pm 8,9\%$ случаев, семейством *Enterobacteriaceae* – $35,5 \pm 8,5\%$ (*E. coli* – $16,1 \pm 6,6\%$; *Enterobacter* spp. – $12,9 \pm 6,0\%$; *Citrobacter* spp. – $6,5 \pm 4,4\%$), род *Micrococcus* составил $6,5 \pm 4,4\%$.

При изучении зависимости пейзажа микрофлоры от вида оперативного вмешательства отмечено, что *Staphylococcus* spp. и *Micrococcus* spp. встречались чаще при операциях, относящихся к классу II – условно-чистые ($40,6 \pm 5,3$ и $3,5 \pm 1,98\%$ соответственно) (рис. 2).

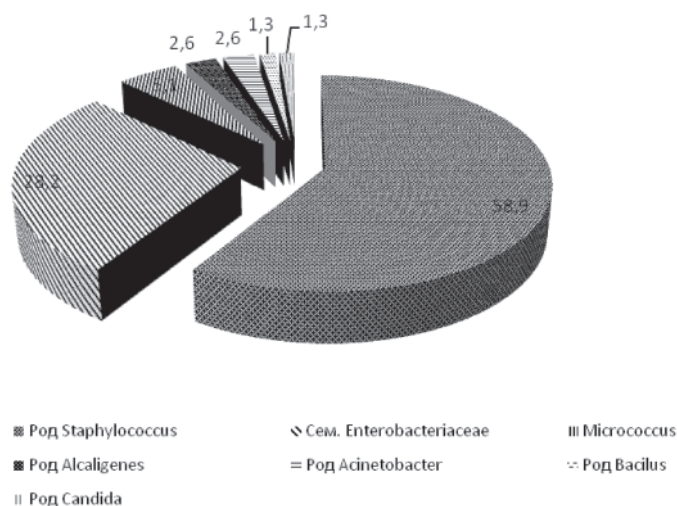


Рис. 1. Микробный пейзаж операционных ран

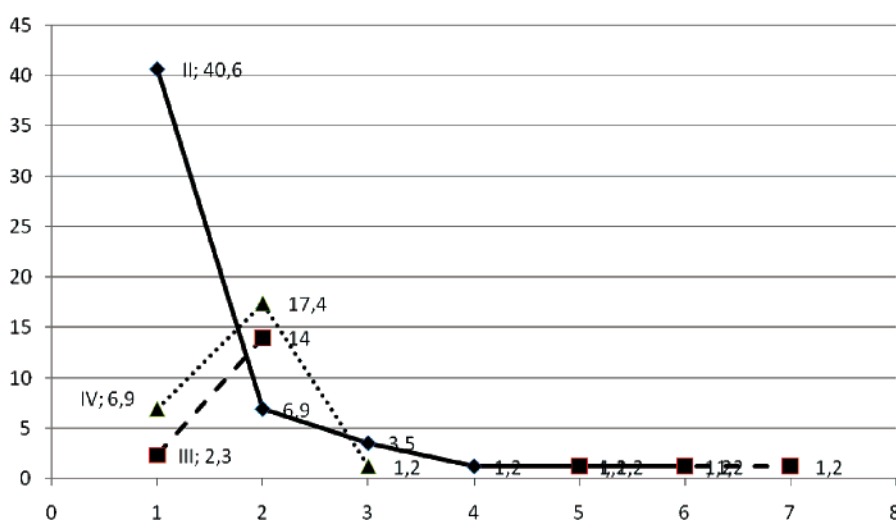


Рис. 2. Распределение микроорганизмов, выделенных интраоперационно, по классу хирургических ран (операций). Обозначения: II – второй класс раны, III – третий класс, IV – четвертый класс: 1 – Staphylococcus spp.; 2 – E. coli; 3 – Micrococcus spp.; 4 – C. crusei; 5 – Alcaligenes spp.; 6 – Acinetobacter spp.; 7 – B. mesentericus

Бактерии семейства Enterobacteriaceae выделялись у хирургических больных при операциях, относящихся к классу II – условно-чистые в $6,9 \pm 2,8\%$ случаев. Бактерии рода Candida, рода Alcaligenes, рода Acinetobacter по одному случаю ($1,2 \pm 1,2\%$) в этом же классе ран. В III классе континированных ран увеличился удельный вес бактерий семейства Enterobacteriaceae до $14 \pm 3,7\%$ и уменьшилось количество стафилококков до $2,3 \pm 1,6\%$. Род Alcaligenes и род Acinetobacter также обнаружили в одном случае ($1,2 \pm 1,2\%$), появились анаэробная флора – B. mesentericus ($1,2 \pm 1,2\%$). В IV классе инфицированных ран, чаще выделялись бактерии семейства Enterobacteriaceae ($17,4 \pm 4,01$), реже бакте-

рии Staphylococcus spp. и Micrococcus spp., чем при операциях II класса ($6,9 \pm 2,8$ и $1,2 \pm 1,2\%$, соответственно).

Анализ выделения микроорганизмов в операционной ране показал повышение контаминации с увеличением класса ран: с $41,8 \pm 5,2\%$ в «условно-чистых» (II класс) до $45,9 \pm 8,2\%$ в «загрязненных» и $52,9 \pm 12,5$ в «грязных». При этом в ранах I класса – микроорганизмы обнаружены не были. Преобладание бактерий Staphylococcus spp. и Micrococcus spp. во втором классе операций, возможно, связано с проникновением в рану аутомикрорфлоры. Увеличение удельного веса бактерий семейства Enterobacteriaceae в III и IV классах операций, возможно, связано с вовлечени-

ем в процесс биотопов организма человека, которым свойственно присутствие указанных микроорганизмов, а именно желудочно-кишечного тракта, половых органов, с протекающим в них острым негнойным воспалением (класс III операции) и присутствием в области операции инфекции или произошедшей перфорацией кишечника в результате воспаления (например, гангренозно-перфоративный аппендицит, кишечная непроходимость) – класс IV операции.

С увеличением класса ран (операций) происходило не только повышение контаминации, но и увеличение плотности распределения микроорганизмов (КОЕ/см²). Причем микроорганизмы, выделенные с большим удельным весом (*Staphylococcus* spp., *E. coli*), имели и большую плотность распределения $1 \cdot 10^3 - 1 \cdot 10^5$ КОЕ/см².

При оценке иерархической структуры микробиоценоза операционной раны нами

был использован индекс значимости, предложенный М.П. Наткевичайте-Иванаскене (1985). (табл. 1). Наиболее значимыми во II классе ран (операций) были бактерии *Staphylococcus* spp., показатель их флористической значимости составил 24,45 % (в 4,4 раза выше, чем в III классе). Бактерии *E. coli* оказались наиболее значимы в III классе с индексом 23,53 % (в 4,2 раза выше, чем во II классе). Индексы флористической значимости для стафилококков и энтеробактерий в IV классе ран (операций) практически сравнялись (16,21 и 18,01 % соответственно). Прочие микроорганизмы (*Micrococcus* spp., *Acinetobacter* spp., *Alcaligenes* spp., *B. mesentericus*) имели низкие индексы флористической значимости с отмечающейся тенденцией к росту в 3,2 (при переходе от II к IV классу), в 2,5 и 4,9, 1,4 раза при переходе к III классу соответственно.

Таблица 1

Флористическая значимость микроорганизмов в микробиоценозе различного класса ран (операций)

Микроорганизмы	Индекс флористической значимости (V, %)		
	Класс II: условно-чистая	Класс III: контаминированная «загрязненная»	Класс IV: «грязная» (инфицированная)
Род <i>Staphylococcus</i>	24,45	5,54	16,21
Род <i>Escherichia</i>	5,56	23,53	18,01
Род <i>Micrococcus</i>	1,11	-	3,6
Род <i>Acinetobacter</i>	0,56	1,38	-
Род <i>Alcaligenes</i>	0,56	2,77	-
Род <i>Bacillus</i>	-	1,38	-
Род <i>Candida</i>	0,56	-	-

Известно, что представители резидентной микрофлоры могут фиксироваться к строго определенным рецепторам, поэтому становится очевидной причина экологической значимости стафилококков и энтеробактерий [8].

Для выяснения структуры симбиотических взаимоотношений были изучены индексы постоянства различных таксонов, формирующих микрофлору операционной раны. Все микроорганизмы, обнаруженные в ранах, отнесены к группе эпизодически встречающихся или случайных, так как показатель постоянства представителей микробиоценоза не превышал 25 %.

Для полной характеристики микробиоценоза операционной раны количественные параметры необходимо дополнить показателями, отражающими качественные сдвиги в экосистеме, так как микроорганизмы, выделенные при операциях, отнесены к случайным видам [5]. К таким показателям относится индекс видового разнообразия, измеряемый отношением v количества видов

в микробиоценозе к общей бактериальной обсемененности, выраженной в lg КОЕ/г (Р. Уиттекер, 1988) [7]. На уровне первичных продуцентов видовое разнообразие служит средством функциональной стабильности сообщества, поскольку такие экосистемы, по мнению С.И. Сытника (1990), обладают высоким видовым разнообразием. Анализ показал, что индекс богатства видов (d) выше во II классе ран (операций) в 9,3 раза, чем в III классе ран (операций), и в 7 раз выше, чем в IV классе ран (операций) (табл. 2).

Таблица 2

Видовое разнообразие микроорганизмов (d), выделенных в различных классах ран (операций)

Класс раны (операции)	Видовое разнообразие микроорганизмов (d)
I	0
II	2,8
III	0,3
IV	0,4

Выводы

Проведенный анализ микробного пейзажа ран в момент оперативного вмешательства показал, что все выделенные микроорганизмы отнесены к группе эпизодически встречающихся или случайных, транзиторных ($C < 25\%$), так как операционная рана по своей сути не является биотопом человеческого организма с наличием постоянных обитателей. Ведущее место среди выделенных микроорганизмов занимали бактерии семейств Micrococcaceae (род *Staphylococcus*, род *Micrococcus*) и Enterobacteriaceae как в моноформе, так и в ассоциативной с преобладанием *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *E. coli*. Указанные микроорганизмы имели наибольший показатель флористической значимости и наибольшую плотность распределения, которая увеличивается с ростом класса ран (операций) и уменьшением богатства видов. Также с увеличением класса ран (операций) от I к IV отмечено нарастание их контаминации от $41,8 \pm 5,2$ до $52,9 \pm 12,5\%$, что в полной мере предсказывает риск развития ПОИ и может служить в качестве важного прогностического компонента.

Многолетняя динамика ПОИ в России не изучена в связи с отсутствием объективных данных о частоте хирургических инфекций [3], поэтому изучение микробиоценоза операционной раны, экологических взаимодействий, патогенных свойств микрофлоры и устойчивости к антимикробным препаратам является одним из этапов решения проблемы ПОИ, включая ее профилактику, лечение, предупреждение осложнений и неблагоприятных исходов.

Список литературы

1. Абаев Ю.К. Послеоперационная раневая инфекция у детей // Детская хирургия. – 2007. – №3. – С. 47–51.
2. Генотипические особенности штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, циркулирующих в хирургическом стационаре / Л.Р. Аветисян, М.Ю. Чернуха, Н.И. Габриелян и др. // Журнал микробиол. – 2009. – № 5. – С. 33–38.
3. Зуева Л.П., Яфаев Р.Х. Эпидемиология. – СПб.: Фолиант, 2006. – 240 с.
4. Наткевичайте-Иванускене М.П. Количественные соотношения встречаемости и константности групп видов в растительных сообществах // Биол. науки. – 1985. – №8. – С. 63–68.
5. Одум Ю. Экология. – М.: Мир, 1986. – Т. 2. – 376 с.
6. Рахманова С.Н., Шаркова В.А., Юцковский А.Д. Структура и иерархия таксономических групп микрофлоры кожи больных УБ в Приморском крае // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2011. – №3. – С. 34–36.
7. Уиттекер Р. Сообщества и экосистемы: пер с англ. – М., 1980. – 217 с.

8. Шаркова В.А., Лайман Е.Ф., Баранова Н.А., Федоренко А.Т., Шарафулсламова И.Д., Гуркалюк В.А., Глушко М.В., Полукаров В.В., Наумец Ф.Н. // Аллергология и иммунология. – 2011. – Т.12, №1. – С. 95–96.

9. Шаркова В.А., Рахманова С.Н. Микрофлора кожи при угревой болезни. – Владивосток, 2011. – 78 с.

10. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. – М.: Грань, 1998. – Т. 1. – 287 с.

11. Meakins J, Reitz J. Prevention of Postoperative infection. Arch Surg. Section 1, 2005.

12. Patrick Pessaux, MD; Simon Msika, MD, PhD; David Atalla, MD et al. Risk Factors for Postoperative Infectious Complications in Noncolorectal Abdominal Surgery. Arch Surg. – 2003. – №138. – P. 314–324.

References

1. Abaev Ju.K. Posleoperacionnaja ranevaja infekcija u detej – Detskajahirurgija, 2007, no. 3, pp. 47–51.
2. Aветisjan L.R., Chernuha M.Ju., Gabrielljan N.I., idr. Genotipicheskie osobennosti shtammov *Pseudomonas aeruginosa* cirkulirujuv v hirurgicheskom stacionare – Zhurnalmikrobiol, 2009, no 5, pp. 33–38.
3. Zueva L.P., Jafaev R.H. Jepidemiologija (Epidemiology). S.-Peterburg: «FOLIANT», 2006. 240 p.
4. Natkevichajte-Ivanuskene M.P. Kolichestvennye sootnoshenija vstrechaemosti i konstantnosti grupp vidov v rastitel'nyh soobvestvakh – Biolnauki, 1985, no 8, pp. 63–68.
5. Odum Ju. Jekologija (Ecology) M.: Mir, 1986. T. 2. 376 p.
6. Rahmanova S.N., Sharkova V.A., Juckovskij A.D. Struktura i ierarhij ataksonomicheskikh grupp mikroflory kozhi bol'nyh UB v Primorskome krae – Tihookeanskij medicinskij zhurnal, 2011, no 3, pp. 34–36.
7. Uittaker R. Soobwestva i jekosistemy (Communities and ecosystems) per s angl. M., 1980. 217 p.
8. Sharkova V.A., Lajman E.F., Baranova N.A., Fedorenko A.T., Sharafulislamova I.D., Gurkaljuk V.A., Glushko M.V., Polukarov V.V., Naumec F.N. – Allergologija i immunologija, 2011, T.12, no 1, pp. 95–96.
9. Sharkova V.A., Rahmanova S.N. Mikroflora kozhi pri ugrevoj bolezni (Skin microflora at an ugrevy illness) Vladivostok, 2011. 78 p.
10. Shenderov B.A. Medicinskaja mikrobnaja jekologija i funkcional'noe pitanie (Medical microbic ecology and functional food). M.: Gran', 1998. T. 1. 287 p.
11. Meakins J, Reitz J. Prevention of Postoperative infection. Arch Surg. Section 1, 2005.
12. Patrick Pessaux, MD; Simon Msika, MD, PhD; David Atalla, MD et al. Risk Factors for Postoperative Infectious Complications in Noncolorectal Abdominal Surgery. Arch Surg. 2003; 138: 314–324.

Рецензенты:

Мартынова А.В., д.м.н., доцент кафедры эпидемиологии и ВЭ ГБОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Владивосток;

Зайцева Е.А., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экологии патогенных бактерий, ФБГУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии СО РАМН», г. Владивосток.

Работа поступила в редакцию 25.05.2012.