

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616-001.4-002-036.12-076.5-091.8-08

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-326-339>

Поступила в редакцию 29.07.2022

Received 29.07.2022

Ю. И. Ярец¹, И. А. Славников²

¹Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека,
Гомель, Республика Беларусь

²Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь

ОБОСНОВАНИЕ ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ РАН НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА РЕЗУЛЬТАТОВ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ

Аннотация. Для лечения хронических ран (ХР) требуется комплексный подход с использованием клинической оценки, микробиологических и гистологических методов исследования, что позволит избежать осложнений после хирургического вмешательства.

Цель работы – оценить возможность использования микробиологических и клинико-морфологических параметров, характеризующих состояние ХР, для обоснования выбора тактики предоперационной подготовки к аутодермопластике (АДП).

Проанализированы морфологические и микробиологические показатели ХР ($n = 229$) на различных стадиях инфекционного процесса. Для подготовки ХР к АДП использовались следующие методы лечения: перевязки, вакуум-терапия (ВТ), механический дебридмент (МД), ультразвуковой дебридмент (УЗД).

Критериями, определяющими возможность ведения ХР «под повязкой» в сочетании с МД, являются: отсутствие признаков воспаления и нормальное состояние грануляций, отрицательный результат микробиологического посева, гистологический результат Si 1/Si 2 и Sp 1/Sp 2. Для выполненных патологически измененными грануляциями ХР, колонизированных потенциальными патогенами и имеющих критерии Sp 3, Si 2/Si 3, показано использование двух процедур УЗД (1-я – в сочетании с МД, 2-я – перед АДП), между которым применяется ВТ. Имеющие признаки Sp 3 в сочетании с Si 1 или Si 2 критически колонизированные раны, из которых выделяются микроорганизмы в количестве $\leq 10^5$ КОЕ/мл, характеризующиеся персистентными свойствами, являются показанием к ВТ, которая выполняется между двумя процедурами УЗД. Клинические признаки инфекции, наличие в ране крупнозернистых грануляций, морфологические признаки Si 3/Si 2 и Sp 1/Sp 2 являются показаниями к использованию двух процедур УЗД в сочетании с системной антибактериальной терапией на основании результатов посева.

Микробиологические и морфологические параметры объективно характеризуют состояние ХР на различных стадиях инфекционного процесса (колонизация, критическая колонизация, инфекция) и рекомендуются в качестве критериев выбора тактики предоперационной подготовки к АДП.

Ключевые слова: хроническая рана, инфекционный процесс, микробиологический посев, интерпретация результатов, патогенный потенциал, морфологическое исследование, дебридмент раны, вакуум-терапия, аутодермопластика

Для цитирования: Ярец, Ю. И. Обоснование тактики лечения хронических ран на различных стадиях инфекционного процесса на основании анализа результатов микробиологических и клинико-морфологических параметров / Ю. И. Ярец, И. А. Славников // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2023. – Т. 20, № 4. – С. 326–339. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-326-339>

Yuliya I. Yarets¹, Ilya A. Slavnikov²

¹Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus

²Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

SUBSTANTIATION OF TACTICS OF CHRONIC WOUND BED PREPARATION AT VARIOUS STAGES OF THE INFECTIOUS PROCESS ON THE BASIS OF THE ANALYSIS OF THE RESULTS OF MICROBIOLOGICAL, CLINICAL AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS

Abstract. The chronic wounds (CW) bed preparation requires an integrated approach using wound assessment, microbiological and histological analysis, which will avoid skin graft failure.

The aim was to evaluate the possibility of using microbiological and morphological parameters of CW assessment to substantiate the choice of tactics of wound bed preparation to skin grafting (SG).

Morphological and microbiological indicators of CW ($n = 229$) at various stages of the infectious process were analyzed. To prepare CW to SG, the following treatment methods were used: dressings, vacuum therapy (VT), mechanical debridement (MD), and ultrasound debridement (UD).

The criteria that determine the possibility of CW preparation “under a bandage” in combination with MD are: the absence of inflammation signs and the normal state of granulations (red-pink color, firm and moist), a negative result of wound

swabs, the histological result of Si 1/Si 2 and Sp 1/Sp 2. For CW performed with pathologically altered granulations colonized by potential pathogens and having Sp 3, Si 2/Si 3 criteria, the use of 2 UD procedures is indicated (1st in combination with MD, 2nd before SG), between which VT is applied. Critically colonized wounds showing the signs of Sp 3 in combination with Si 1 or Si 2, from which microorganisms are isolated in an amount of $\leq 10^5$ CFU/ml and are characterized by persistent properties, are an indication for VT, which is performed between two UD procedures. Clinical infection signs, the presence of bright red friable and bulge granulations in the wound, morphological signs of Si 3/Si 2 and Sp 1/Sp 2 are indications for the use of 2 UD procedures in combination with systemic antibiotic therapy based on wound swab culture results.

Microbiological and morphological parameters characterize the CW state at various stages of the infectious process (colonization, critical colonization, infection) and are recommended as criteria for choosing tactics for wound bed preparation to SG.

Keywords: chronic wound, infectious process, wound swab culture, interpretation of results, pathogenic potential, morphological study, wound debridement, vacuum therapy, skin grafting

For citation: Yarets Yu. I., Slavnikov I. A. Substantiation of tactics of chronic wound bed preparation at various stages of the infectious process on the basis of the analysis of the results of microbiological, clinical and morphological parameters. *Vestsi Natsyyanal' nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 4, pp. 326–339 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-326-339>

Введение. Значительной проблемой в хирургии дефектов покровных тканей тела является кожная пластика у пациентов с хроническими ранами (ХР) ввиду значительного количества неудовлетворительных исходов операции. Для исключения осложнений после аутодермопластики (АДП) у данной группы пациентов требуется оценка многих критериев стагнирующей раны. В отечественной хирургической практике нередко встречаются случаи, когда лечащий врач ограничивается лишь получением анамнестических сведений о ХР, что позволяет лишь установить причину возникновения дефекта кожи [1].

В настоящее время многие известные хирургические школы используют единую международную систему клинической оценки ХР, представленную в акрониме «TIME»: Т (Tissue) – наличие нежизнеспособных тканей; I (Infection, inflammation) – характер воспалительных изменений, связанных с наличием микроорганизмов; М (Moisture imbalance) – верификация уровня влажности и характеристик экссудата; Е (Epithelial edge advancement) – состояние края раны и окружающих тканей, выявление полостей деструкции и краевой эпителизации. Указанная система предполагает не только оценку указанных выше критериев локального статуса ХР, но и целевое лечебное воздействие на те параметры раны, которые являются патологическими: выполнение дебрідмента, подавление инфекции, контроль уровня влажности, стимуляция эпителизации [2].

Однако даже при использовании данного акронима возможно получение неудовлетворительного результата кожной пластики. Причиной этого в первую очередь является то, что ХР одинаковой давности и аналогичного генеза, а значит, имеющие сопоставимые локальные критерии, могут иметь разный микробиологический статус (контаминация, колонизация, критическая колонизация и глубокая раневая инфекция), требующий использования различных методов дебрідмента (механического, физического), а также системной антибактериальной терапии. Второй причиной осложнений после АДП является отсутствие оценки морфологического статуса ХР, а именно уровней воспаления и пролиферации. Адекватный анализ морфологических критериев позволит выявить состояния, при которых невозможно обеспечить нормальную трофическую функцию раневого ложа для трансплантированного кожного лоскута и применить методы лечения, позволяющие нивелировать нарушения пролиферации.

Цель исследования – оценить возможность использования микробиологических и клинко-морфологических параметров, характеризующих состояние хронических ран, для обоснования выбора тактики предоперационной подготовки к аутодермопластике.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования являлись микробиологические и клинко-морфологические параметры ХР пациентов (срок давности ран более 3 недель, $n = 229$) на различных стадиях инфекционного процесса (колонизация, критическая колонизация, инфекция). Пациенты поступали в ожоговое отделение ГУЗ «Гомельская городская клиническая больница № 1» для оказания специализированной медицинской помощи в период с 2012 по 2020 г. Дефекты покровных тканей тела были представлены посттравматическими (вследствие механических травм, термических ожогов), постнекротическими (после гнойно-воспалительных заболеваний кожи и подлежащих тканей) ранами; трофическими (на культиях нижних конечностей)

после длительного ношения протеза), нейротрофическими (вследствие механической травмы периферических нервов) язвами; пролежнями III стадии (вследствие длительного сдавления тканей).

Для оценки клинического состояния раны использовали международные рекомендации [2–5]. При наличии признаков воспаления на основании критериев NERDS&STONEES устанавливали состояния критической колонизации ($n = 59$; 25,8 %) и инфекции ($n = 29$; 12,7 %) [3]. Для подтверждения инфекционной этиологии воспалительного статуса всем пациентам выполняли микробиологическое исследование раневого отделяемого согласно разработанным нами рекомендациям [6]. Раны, не имеющие клинических признаков воспаления ($n = 141$), разделяли на две категории: ХР, из которых не высевались микроорганизмы ($n = 34$; 14,8 %), и ХР, колонизированные микроорганизмами ($n = 107$; 46,7 %). При условии соблюдения требований преаналитического этапа после посева учитывали все микроорганизмы, выделенные на плотных питательных средах, а также из среды обогащения. Отрицательным результатом посева (в бланке ответа указывалось, что «роста микрофлоры не получено») считали отсутствие выделения микроорганизмов после их культивирования. Количество полученных изолятов представляли в виде $\leq 10^5$ КОЕ/мл и $> 10^5$ КОЕ/мл. Микроорганизмы, выделенные из среды обогащения, обозначали как «качественное определение». В протокол микробиологического исследования включали тесты, характеризующие патогенный потенциал изолятов. Свойства оценивали у изолятов, имеющих широкое клиническое значение и представляющих первоочередной интерес для микробиологического мониторинга в стационаре: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, среди энтеробактерий – *Proteus mirabilis* [7]. У фенотипических маркеров с помощью стандартных методов анализировали способность к секреции защитных протеаз, определяющих персистентные свойства бактерий (антикомплементарную, антилизозимную, антиинтерфероновую активность – АКА, АЛА, АИА), а также протеазную и адгезивную активность (АА). Способность бактерий формировать биопленку определяли спектрофотометрическим методом. Для окраски основного вещества (ОВ) биопленки использовали краситель Конго красный, для окраски биомассы (БМ) – генцианвиолет. Результат выражали в единицах оптической плотности [8]. Методом ПЦР у изолятов детектировали гены, регулирующие вирулентность, образование биопленки, коммуникацию в рамках системы quorum sensing (QS). Чувствительность изолятов к антибактериальным средствам (АБС) оценивали согласно действующим рекомендациям [9, 10].

В ХР регистрировали морфологические признаки воспаления и нарушений пролиферации на основании результатов гистологического исследования биоптатов грануляционной ткани, которое выполняли однократно (на момент поступления пациентов). Результаты анализа морфологических критериев представляли в виде Si 0, Si 1, Si 2, Si 3 (обозначающих отсутствие, низкую, умеренную, высокую степени активности воспаления) и Sp 0, Sp 1, Sp 2, Sp 3 (обозначающих отсутствие, минимальные, умеренные, выраженные нарушения пролиферации) [11].

Всем пациентам выполняли комплекс лечебных мероприятий подготовки основания раны, направленных на перевод хронической раны в острую и достижения ее готовности к пластическому закрытию путем АДП. Стандартный метод подготовки раны, применяемый в практике гнойной хирургии, включал ежедневные перевязки с мазью на водорастворимой основе. В связи с риском возникновения системной инфекции при наличии стойкой гипертермии пациентам, имеющим клинические признаки инфекции раны по STONEES ($n = 29$), в схему предоперационного лечения включали антибиотики, исходя из результатов микробиологического посева раневого отделяемого. В предоперационном периоде во время перевязок проводился хирургический туалет ран стерильными марлевыми шариками, смоченными в 4%-ном растворе борной кислоты. МД раны подразумевал иссечение некротического струпа, верхнего слоя патологически измененных грануляций. Подготовка раны с использованием аппаратных методов включала УЗД с применением одной (непосредственно перед АДП) или двух процедур. При выполнении двух сеансов УЗД первую процедуру сочетали с МД и выполняли на 3-и (2-е, 5-е) сутки (95 % ДИ: 2,92–3,57) после поступления в стационар, а вторую проводили через 5–10 сут, непосредственно перед АДП. Для выполнения УЗД использовали диссектор Sonoca-185 (25 кГц) (Söring, Германия). В качестве звукопроводящей среды применяли стерильный изотонический раствор натрия хлорида. Между процедурами УЗД подготовку раны осуществляли с помощью стандартного «повязочного» метода. Кроме того, применяли комбинированный метод аппаратного лечения – между двумя этапами УЗД для подготовки раны использовали ВТ. Для создания

отрицательного давления 0,075–0,1 кПа (80–120 мм рт. ст.) в области раны применяли аспиратор «В 40 А» (НПО «Висма–Планар», Республика Беларусь). Смену покрытий и обработку емкостей аппарата производили через день, подготовку раны – до ее полного очищения и формирования нормальной грануляционной ткани. АДП включала в себя закрытие всей площади раневого дефекта расщепленным кожным лоскутом толщиной 0,2–0,4 мм. Полное восстановление трофики трансплантата и его приживление происходило на 7–10-е сутки. В случаях осложненного послеоперационного периода возникал лизис лоскута. Повторную АДП выполняли после адекватной подготовки раны.

При статистическом описании результатов встречаемость микробиологических и морфологических признаков выражали в относительных единицах (%). Частотный анализ в таблицах сопряженности проводили с использованием критерия χ^2 Пирсона. Для слабонасыщенных таблиц (имелись ячейки со значениями ≤ 5) значимость оценивали с помощью рандомизированной процедуры Монте-Карло.

Результаты и их обсуждение. Всего из колонизированных ХР ($n = 107$), не имеющих клинических признаков воспаления, было выделено 154 культуры микроорганизмов. *S. aureus* составляли 33,8 % ($n = 52$) (монокультуры – 33; в ассоциациях – 19), выделялись в различном количестве ($>10^5$ КОЕ/мл – 40,3 %, $n = 21$; $\leq 10^5$ КОЕ/мл – 32,7 %, $n = 17$; качественно – 27,0 %, $n = 14$). *E. faecalis* обнаруживались в 21,4 % ($n = 33$) случаев ($>10^5$ КОЕ/мл – 18,2 %, $n = 6$; $\leq 10^5$ КОЕ/мл – 18,2 %, $n = 6$; качественно – 63,6 %, $n = 21$), чаще в составе ассоциаций ($n = 26$), реже в монокультурах ($n = 7$). Другими представителями грамположительной (Грамм(+)) микробиоты были коагулазонегативные стафилококки (coagulase-negative staphylococci – CoNS) – 14,3 % ($n = 22$), представленные *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*. Выделялся широкий спектр грамотрицательных (Грамм(-)) бактерий (16,2 %, $n = 25$), включающих энтеробактерии *P. mirabilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* и неферментирующие бактерии (НФБ) (8,5 %, $n = 13$) – *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Acinetobacter iwoffii*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* ($n = 6$, монокультуры), *A. baumannii* ($n = 1$, в ассоциации), *K. pneumoniae* ($n = 1$, в ассоциации), *P. mirabilis* ($n = 5$, монокультуры и ассоциации) обнаруживались только при качественном определении. Минимальной была частота встречаемости группы *Streptococcus viridans* (3,2 %, $n = 5$) и *Candida albicans* или *non-albicans* (2,6 %, $n = 4$).

Из критически колонизированных ХР (три и более клинических признака по NERDS) ($n = 59$) было выделено 110 изолятов микроорганизмов в виде монокультур (37,3 %, $n = 22$), двух- или трехкомпонентных ассоциаций (62,7 %, $n = 37$). Монокультуры были представлены *S. aureus* ($n = 11$), *P. aeruginosa* ($n = 7$), *K. pneumoniae* ($n = 2$), *A. baumannii* ($n = 2$). Ассоциации были образованы Грамм(+) (*S. aureus*, CoNS, *E. faecalis*) и Грамм(-) бактериями, видовой спектр которых был не таким широким, как в колонизированных ранах. Так, НФБ были представлены только *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, а энтеробактерии – *P. mirabilis* и *E. cloacae*. Видовой состав микроорганизмов (57 изолятов), выделенных из инфицированных ХР ($n = 29$) (три и более клинических признака по STONEES), существенно не отличался от такового в критически колонизированных ХР и также был представлен монокультурами (35,5 %, $n = 10$) и ассоциациями (65,5 %, $n = 19$).

Наиболее часто из инфицированных ран бактерии выделялись в количестве $>10^5$ КОЕ/мл – 75,4 % (43 изолята): *P. aeruginosa* – 7, *P. mirabilis* – 8, *A. baumannii* – 11, *S. aureus* – 11, *E. faecalis* – 6. Частота обнаружения изолятов в количестве $\leq 10^5$ КОЕ/мл или при качественном определении была одинаковой и составляла по 12,3 % (по 7 изолятов). В отличие от инфицированных ХР, общая частота обнаружения изолятов в количестве $>10^5$ КОЕ/мл в критически колонизированных ХР была ниже – 55,5 % ($n = 61$): *P. mirabilis* – 10, *P. aeruginosa* – 15, *E. faecalis* – 8, *S. aureus* – 22, *K. pneumoniae* – 1, *A. baumannii* – 5. В титре $\leq 10^5$ КОЕ/мл или качественным способом бактерии обнаруживались в 18,2 % ($n = 20$) и 26,3 % ($n = 29$) случаев. По количественным характеристикам микробиота ХР, имеющих клинические признаки воспаления, значимо отличалась от таковой в колонизированных ХР ($>10^5$ КОЕ/мл: 32,5 %, $n = 50$; $\leq 10^5$ КОЕ/мл: 19,5 %, $n = 30$; качественное определение – 48,0 %, $n = 74$), $\chi^2 = 34,07$; $p < 0,001$.

Установлены различия в микробиологических характеристиках бактерий в зависимости от клинических категорий ХР – колонизированные, критически колонизированные, инфициро-

ванные раны. *S. aureus*, выделенные из колонизированных ХР, проявляли персистентные свойства. Это выражалось в умеренной и выраженной способности формировать ОВ биопленки, а также в активной секреции защитных протеаз (АКА, АЛА, АИА). Колонизационный потенциал *S. aureus* характеризовался высокой АА в сочетании с накоплением БМ биопленки. У некоторых изолятов *S. aureus* (23,1 %, $n = 12$) из колонизированных ХР не обнаруживались гены *ica* оперона (*icaAD*– и *icaBC*–), который контролирует синтез межклеточного полисахаридного адгезина – одного из факторов вирулентности [12]. У *S. aureus*, выделенных из критически колонизированных и инфицированных ХР, персистентные свойства проявлялись в меньшей степени. Следует отметить, что изоляты *S. aureus* в ряде случаев имели нарушенные идентификационные свойства в виде отсутствия 1–2 признаков, например лецитовителлазной, гемолитической активности на плотных питательных средах (кровяной агар, желточно-солевой агар с добавлением маннита). В 18,8–29,6 % случаев *S. aureus* проявляли фибринолитическую активность (табл. 1).

Изоляты *E. faecalis*, выделенные из колонизированных ХР, в 100 % случаев ($n = 33$) характеризовались умеренной и выраженной способностью формировать ОВ биопленки, тогда как у *E. faecalis*, выделенных из критически колонизированных и инфицированных ХР, это свойство проявлялось в 33,3 % ($n = 4$) и 18,2 % ($n = 2$) случаев ($\chi^2 = 42,72$; $p < 0,001$). Известно, что *E. faecalis*, как представители нормальной микробиоты кишечника, являются слабопатогенными бактериями. В связи с этим секреция протеаз (АКА, АИА, АЛА), а также АА, в наибольшей степени выраженная у *E. faecalis*, выделенных из ХР с клиническими признаками воспаления (табл. 1), может рассматриваться как реализация патогенного потенциала *E. faecalis*. Наиболее постоянными генетическими детерминантами вирулентности у *E. faecalis* были *gelE* (синтез желатиназы), *fsrABC* (регуляторная система синтеза желатиназы), *ebpABC* (регуляторная система синтеза адгезинов), *bop* (синтез поверхностных белков биопленки), *pil* (образование пилей), которые обнаруживались у 100 % изолятов. Остальные гены – *asal* (синтез адгезина), *agg* (образование агрегационной субстанции), *esp* (секреция белков биопленки) и *ace* (образование адгезина, обеспечивающего прикрепление к коллагену) – реже детектировались у *E. faecalis* из колонизированных ран (36,4–69,7 % случаев) (табл. 1).

Учитывая постоянство обнаружения *E. faecalis* во всех клинических категориях ХР, можно предположить, что такие признаки, как способность формировать биопленку, низкие и умеренные значения АКА, АИА, АЛА и АА, отсутствие некоторых генетических маркеров вирулентности, определяют *E. faecalis*, негативно влияющие на процесс заживления (колонизированные ХР). В свою очередь, в развитии инфекционного процесса (критически колонизированные и инфицированные ХР) имеют значение *E. faecalis*, обладающие выраженными АА, АИА, АЛА, АКА и имеющие полный комплекс генетических маркеров вирулентности.

Несмотря на наличие генов QS *LasI/LasR* и *RhlI/RhlR* у всех изолятов *P. aeruginosa* ($n = 34$) фенотипическая способность к синтезу ОВ биопленки отличалась и была выше в колонизированных ХР. Также у *P. aeruginosa* наблюдались различия в степени выраженности персистентных свойств и в частоте встречаемости генов вирулентности (табл. 2).

У *P. aeruginosa*, выделенных из критически колонизированных и инфицированных ХР, в 61,9–85,7 % случаев детектировался ген *exoU*. Доказано, что наличие этого гена определяет наиболее вирулентные *P. aeruginosa*. Продукция экзотоксина *exoU* приводит к быстрому нарушению целостности цитоплазматической мембраны, как при некрозе. Токсическое действие *exoU* направлено главным образом против фагоцитов, а также на преодоление эндотелиального барьера, что способствует бактериальной диссеминации и персистенции [13]. У *P. aeruginosa*, выделенных из колонизированных ХР, ген *exoU* отсутствовал, однако определялся ген *exoS*. Известно, что активность экзотоксина *exoS* направлена на нарушение цитоскелета, что приводит изменению формы клеток и подавлению фагоцитоза *P. aeruginosa*. Отмечают, что гибель иммунных клеток при действии *exoS* позволяет *P. aeruginosa* персистировать в организме [14]. Следовательно, можно предположить, что *exoS*⁺ *P. aeruginosa* будут иметь значение в задержке раневого заживления, что подтверждается их обнаружением в ХР, не имеющих клинических признаков воспаления.

A. baumannii обнаруживались преимущественно в критически колонизированных и инфицированных ХР и характеризовались присутствием основных генов вирулентности: *pgA*, который участвует в синтезе и транспорте внеклеточного полисахарида – основного компонента матрик-

Таблица 1. Микробиологические характеристики грамположительных изолятов в зависимости от стадии инфекционного процесса в хронической ране

Table 1. Microbiological characteristics of gram-positive isolates depending on the stage of the infectious process in a chronic wound

Признак (характеристика)	К ХР (n = 107)	КК ХР (n = 59)	И ХР (n = 29)	$\chi^2; p$
<i>S. aureus</i> (n = 105):	n = 52	n = 37	n = 16	
<i>icaAD+icaBC+</i> (синтез адгезина)	40 (79,6)	34 (91,9)	16 (100)	7,10; 0,030
умеренная и выраженная способность к синтезу ОВ биопленки	47 (90,4)	29 (78,4)	10 (62,5)	6,89; 0,031
умеренная и выраженная способность к образованию БМ биопленки	46 (88,5)	35 (94,6)	15 (93,8)	1,17; 0,58
отсутствие реакции гемолиза	17 (32,7)	6 (16,2)	2 (12,5)	4,57; 0,10
отсутствие лецитовителлазной активности	12 (23,1)	5 (13,5)	2 (12,5)	1,73; 0,46
отсутствие ферментации маннита на агаре	5 (9,6)	2 (5,4)	2 (0)	1,96; 0,34
фибринолитическая активность	14 (29,6)	8 (21,6)	3 (18,8)	0,60; 0,78
протеазная активность	36 (69,2)	31 (83,8)	15 (78,1)	5,38; 0,069
умеренная и выраженная АКА	49 (94,2)	24 (64,9)	5 (31,3)	28,06; <0,001
умеренная и выраженная АА	47 (90,4)	23 (62,2)	9 (56,3)	12,89; 0,001
умеренная и выраженная АЛА	42 (86,5)	15 (40,5)	3 (18,8)	32,44; <0,001
умеренная и выраженная АИА	49 (94,2)	22 (59,5)	8 (50)	20,48; <0,001
<i>E. faecalis</i> (n = 56):	n = 33	n = 12	n = 11	
<i>gelE+</i> (синтез желатиназы)	33 (100)	12 (100)	11 (100)	–
<i>fsrABC+</i> (регуляторная система желатиназы)	33 (100)	12 (100)	11 (100)	–
<i>asaI+</i> (синтез адгезина)	23 (69,7)	12 (100)	11 (100)	8,48; 0,015
<i>agg+</i> (синтез агрегационной субстанции)	12 (36,4)	12 (100)	8 (72,7)	15,91; <0,001
<i>esp+</i> (синтез белков биопленки)	20 (60,6)	11 (91,7)	10 (90,9)	6,52; 0,038
<i>ace+</i> (синтез адгезина к коллагену)	12 (36,4)	10 (83,3)	8 (72,7)	9,82; 0,006
<i>bop+</i> (синтез белков биопленки)	33 (100)	12 (100)	11 (100)	–
<i>ebpABC+</i> (синтез адгезинов)	33 (100)	12 (100)	11 (100)	–
<i>pil+</i> (образование пилей)	33 (100)	12 (100)	11 (100)	–
умеренная и выраженная способность к синтезу ОВ биопленки	33 (100)	4 (33,3)	2 (18,2)	42,72; <0,001
умеренная и выраженная способность к образованию БМ биопленки	25 (75,7)	11 (91,7)	11 (100)	15,87; 0,003
выраженная АА	12 (36,4)	12 (100)	11 (100)	23,42; <0,001
выраженная АКА	18 (54,5)	12 (100)	11 (100)	14,28; 0,002
выраженная АЛА	15 (42,5)	12 (100)	10 (90,9)	15,51; 0,004
выраженная АИА	6 (18,2)	12 (100)	11 (100)	36,34; <0,001

Примечание. Здесь и в табл. 2: К ХР, КК ХР, И ХР – колонизированные, критически колонизированные и инфицированные хронические раны соответственно; жирным шрифтом выделены значимые различия.

са биопленки; *abaI* – гена QS, ответственного за синтез сигнальных молекул семейства N-ацил-гомосеринлактонов; *csuE*, который кодирует механизм сборки пилей и обеспечивает формирование плотной биопленки; *ompA*, который кодирует фермент инвазии с ДНКазной активностью; *bar*, отвечающего за синтез белков, ассоциированных с биопленкой.

P. mirabilis не во всех случаях проявляли полный комплекс генетических маркеров вирулентности. У *P. mirabilis*, выделенных из колонизированных ран, наиболее редко детектировались ген QS *rsbA*, который отвечает за экспрессию трансмиттера сигнальной системы, и ген *ptaA*, который кодирует синтез токсина с инвазивными свойствами. Степень выраженности патогенных свойств, уровень АА у *P. mirabilis*, выделенных из различных ХР, практически не отличались (табл. 2).

В ХР, проявляющих клинические признаки инфекции, *S. aureus* характеризовались более высоким уровнем резистентности – тремя и более АБС (цефокситин, 30 мкг, эритромицин, гентамицин, левофлоксацин, норфлоксацин, рифампицин, $\chi^2 = 14,59$, $p < 0,001$), за исключением линезолида, тигециклина, ванкомицина. *S. aureus*, выделенные из колонизированных ХР, в 61,5 % случаев ($n = 32$) обладали чувствительностью к АБС; в 28,8 % случаев ($n = 15$) проявляли резистентность к 1–2 АБС (цефокситину, эритромицину). *E. faecalis* проявляли резистентность к 2–4 АБС (норфлоксацину, гентамицину, стрептомицину, эритромицину). У всех изолятов *E. faecalis* регистрировалась чувствительность к линезолиду, тигециклину, тейкопланину. Следует отметить высокий уровень резистентности *P. aeruginosa* к АБС: 76,5 % изолятов ($n = 26$) были резистентны к 3–5 АБС, 23,5 % – к 6–9 АБС ($n = 8$), за исключением колистина. *A. baumannii*

Т а б л и ц а 2. Микробиологические характеристики грамотрицательных изолятов в зависимости от стадии инфекционного процесса в хронической ране

T a b l e 2. Microbiological characteristics of gram-negative isolates depending on the stage of the infectious process in a chronic wound

Признак (характеристика)	К ХР (n = 107)	КК ХР (n = 59)	И ХР (n = 29)	χ^2 ; p
<i>P. aeruginosa</i> (n = 34):	n = 6	n = 21	n = 7	
<i>LasI</i> / <i>LasR</i> ⁺ (гены QS)	6 (100)	21 (100)	7 (100)	–
<i>RhlI</i> / <i>RhlR</i> ⁺ (гены QS)	6 (100)	21 (100)	7 (100)	–
<i>algD</i> ⁺ (формирование альгината биопленки)	6 (100)	20 (95,2)	7 (100)	0,64; 1,00
<i>pelF</i> ⁺ (синтез полисахарида биопленки)	6 (100)	19 (90,5)	6 (85,7)	0,85; 1,00
<i>pslD</i> ⁺ (синтез полисахарида биопленки)	6 (100)	16 (76,2)	7 (100)	3,63; 0,17
<i>exoU</i> ⁺ (экзотоксин)	0 (0)	13 (61,9)	6 (85,7)	10,44; 0,004
<i>exoS</i> ⁺ (экзотоксин)	6 (100)	8 (38,1)	2 (28,6)	8,39; 0,016
умеренная и выраженная способность к синтезу ОВ биопленки	6 (100)	11 (52,4)	4 (57,2)	26,31; <0,001
выраженное образование БМ биопленки	4 (66,7)	14 (66,7)	3 (42,9)	1,33; 0,61
выраженная АА	3 (50)	3 (14,3)	7 (100)	18,01; 0,001
протеазная активность	4 (66,7)	16 (76,2)	6 (85,7)	0,65; 0,86
выраженная АКА	6 (100)	5 (23,8)	7 (100)	18,71; <0,001
выраженная АЛА	6 (100)	8 (38,1)	4 (57,1)	7,24; 0,027
выраженная АИА	3 (50)	6 (28,6)	5 (71,4)	4,83; 0,31
<i>A. baumannii</i> * (n = 23):	n = 1	n = 11	n = 11	
<i>abaI</i> ⁺ (синтез молекул системы QS)	1 (100)	10 (90,9)	10 (90,9)	–
<i>pgaA</i> ⁺ (синтез полисахарида биопленки)	1 (100)	11 (100)	11 (100)	–
<i>ompA</i> ⁺ (синтез фактора инвазии)	0 (0)	11 (100)	10 (90,9)	1,05; 0,31
<i>csuE</i> ⁺ (регуляция механизма сборки пилей)	1 (100)	11 (100)	10 (90,9)	1,05; 0,31
<i>bar</i> ⁺ (синтез белков биопленки)	1 (100)	9 (81,8)	5 (45,5)	3,14; 0,08
умеренная и выраженная способность к синтезу ОВ биопленки	1 (100)	5 (45,5)	3 (27,3)	1,07; 0,86
выраженное образование БМ биопленки	1 (100)	3 (27,3)	5 (45,5)	0,78; 0,38
выраженная АА	0 (0)	0 (0)	6 (54,5)	9,14; 0,01
протеазная активность	0 (0)	5 (45,5)	6 (54,5)	0,18; 0,67
выраженная АКА	0 (0)	1 (9,1)	4 (36,4)	3,91; 0,14
выраженная АЛА	0 (0)	0 (0)	4 (36,4)	13,60; 0,001
выраженная АИА	0 (0)	0 (0)	6 (54,5)	11,09; 0,004
<i>P. mirabilis</i> (n = 23):	n = 5	n = 10	n = 8	
<i>rsbA</i> ⁺ (ген QS)	2 (40)	9 (90)	8 (100)	8,38; 0,03
<i>rsmA</i> ⁺ («роящийся» рост)	2 (40)	8 (80)	6 (75)	2,69; 0,37
<i>mrpA</i> ⁺ (синтез Р-фимбрий)	5 (100)	10 (100)	8 (100)	–
<i>pmfA</i> ⁺ (синтез фимбрий)	5 (100)	10 (100)	8 (100)	–
<i>hpmA</i> ⁺ (гемолитическая активность)	2 (40)	7 (70)	6 (75)	1,84; 0,54
<i>zarpA</i> ⁺ (синтез металлопротеиназы)	2 (40)	6 (60)	6 (75)	1,59; 0,41
<i>ptaA</i> ⁺ (синтез токсина протей)	2 (40)	8 (80)	8 (100)	6,54; 0,043
нарушение «роящегося» роста	3 (40)	2 (20)	2 (25)	2,69; 0,37
умеренная и выраженная способность к синтезу ОВ биопленки	5 (100)	6 (66,7)	5 (62,5)	1,8; 0,82
выраженное образование БМ биопленки	2 (40)	4 (40)	3 (37,5)	0,08; 1,0
выраженная АА	0 (0)	6 (60)	5 (62,5)	6,03; 0,22
протеазная активность	1 (20)	3 (30)	3 (37,5)	0,83; 0,71
выраженная АКА	0 (0)	5 (50)	6 (75)	10,78; 0,078
выраженная АЛА	0 (0)	5 (50)	6 (75)	12,39; 0,044
выраженная АИА	0 (0)	4 (40)	4 (50)	9,95; 0,14

П р и м е ч а н и е. * – статистически значимые различия, полученные при сравнении подгрупп пациентов с КК ХР и И ХР.

в 39,1 % случаев (n = 9) были резистентны к 1–2 АБС (ципрофлоксацину, амикацину или тобрамицину), в 43,5 % случаев (n = 10) – к 3–5 АБС (имипенему, меропенему, амикацину, тобрамицину, цiproфлоксацину), и только 4 изолята *A. baumannii* (17,4 %) были чувствительными к АБС. Выявленные показатели резистентности у основных изолятов бактерий, выделенных из ХР, имеющих клинические признаки воспаления, определяют необходимость использования местных

методов санации раны. Это позволит, одной стороны, повысить эффективность проведения системной антибактериальной терапии, а с другой стороны, снизить частоту ее использования за счет реализации бактерицидных и очищающих механизмов физического и механического дебридмента.

Результат морфологического исследования биоптатов грануляционной ткани ХР, не имеющих клинических признаков воспаления ($n = 141$), показал различную степень выраженности гнойного воспаления, которая в 65,3 % случаев ($n = 92$) была умеренной (Si 2), в 25,5 % случаев ($n = 36$) – минимальной (Si 1) и проявлялась слабым или умеренным полнокровием сосудов, отеком эпидермиса и дермы, очаговым скоплением нейтрофилов в поверхностных слоях грануляций, минимальной площадью гнойно-некротического детрита. Реже отмечалась высокая активность воспаления (Si 3, 7,1 %, $n = 10$). У 3 (2,1 %) пациентов с ХР минимальных сроков давности (22–28 сут) признаки гнойного воспаления в биоптатах отсутствовали. Степень нарушения пролиферации в 50,3 % ($n = 71$) и 34,1 % ($n = 48$) случаев соответствовала Sp 2 и Sp 3 и выражалась в присутствии макрофагов и гигантских клеток в инфильтрате и среди грануляционной ткани, в наличии признаков псевдоэпителиоматозной гиперплазии краевого эпителия, а также эластических волокон, гиалиноза стенкой сосудов и межучточного вещества, очагов патологической регенерации. У 12,8 % биоптатов ($n = 18$) нарушения пролиферации были минимальными (Sp 1), в 2,8 % случаев ($n = 4$) они отсутствовали (Sp 0).

Степени активности воспаления Si 2 и Si 3 были характерны для колонизированных ХР ($n = 107$): 74,8 % ($n = 80$) и 9,3 % ($n = 10$). Выраженность нарушений пролиферации была аналогичной – Sp 2 (50,5 %, $n = 54$) и Sp 3 (39,2 %, $n = 42$). В ХР, имеющих отрицательный результат посева ($n = 34$), в 55,9 % случаев ($n = 19$) степень активности воспаления соответствовала Si 1, в 35,3 % ($n = 12$) – Si 2, в 8,8 % ($n = 3$) случаев – Si 0. Выраженность нарушений пролиферации в 50 % случаев ($n = 17$) соответствовала Sp 2, в 26,5 % ($n = 9$) – Sp 1, в 17,6 % случаев ($n = 6$) – Sp 3, у 2 пациентов (5,9 %) – Sp 0. Колонизированные ХР в 75,7 % случаев ($n = 81$) визуально характеризовались патологическими признаками нарушений грануляционной ткани (атрофия, рубцовые изменения). Раны, из которых не высеивались микроорганизмы, в 76,5 % случаев ($n = 26$) были выполнены нормальными мелкозернистыми, бледно-розовыми, плотными, блестящими грануляциями.

Во всех случаях в критически колонизированных и инфицированных ХР наблюдались морфологические признаки гнойного воспаления, степень выраженности которого увеличивалась в зависимости от стадии инфекционного процесса ($p < 0,001$). Категории Si 2 и Si 3 определялись в 59,4 % ($n = 35$) и 20,3 % ($n = 12$) биоптатов критически колонизированных ХР и в 41,4 % ($n = 12$) и 58,6 % ($n = 17$) биоптатов инфицированных ХР соответственно. Категория Si 1 регистрировалась только в критически колонизированных ранах (20,3 %, $n = 12$). Активная воспалительная реакция сочеталась с нарушениями пролиферации: Sp 3 – 23,8 % ($n = 14$), Sp 2 – 45,7 % ($n = 27$), Sp 1 – 23,8 % ($n = 14$) в критически колонизированных ХР; Sp 3 – 20,7 % ($n = 6$), Sp 2 – 41,4 % ($n = 12$), Sp 1 – 34,5 % ($n = 10$) в инфицированных ХР. У 6,7 % ($n = 4$) и 3,4 % ($n = 1$) пациентов соответственно нарушения пролиферации в ХР отсутствовали. Раневое ложе критически колонизированных и инфицированных ХР более чем в 70 % случаев было выполнено патологическими крупнозернистыми ярко-красными (багровыми) легко травмируемыми грануляциями.

Учитывая нормальное состояние грануляций (мелкозернистые, бледно-розовые, плотные, блестящие), отрицательный результат посева раневого отделяемого, отсутствие выраженных морфологических признаков воспаления (Si 1 или Si 2) и явных признаков нарушения пролиферации (Sp 1 или Sp 2), у 34 пациентов (14,8 %) подготовку раны проводили «под повязкой», непосредственно перед АДП выполняли МД. Длительность предоперационной подготовки составила 7,5 (5,0; 10,0) сут (95 % ДИ: 7,24–8,29). Результат пластического закрытия раневых дефектов у этой категории пациентов во всех случаях был успешным (отмечалось приживление кожного лоскута).

Наличие патологических признаков грануляционной ткани (атрофия, рубцовые изменения) в сочетании с морфологическими признаками нарушений пролиферации (Sp 3 или Sp 2) и умеренными воспалительными явлениями (Si 2) обосновывало необходимость использования эффективных методов лечения, направленных на активацию репаративных явлений и перевод ХР в острую рану. Кроме того, колонизация раны монокультурами и ассоциациями бактерий, которые формируют биопленку и обладают персистентными свойствами и генетическими маркерами вирулентности, определяла необходимость применения УЗД с целью разрушения биопленки и уничтожения микроорганизмов благодаря бактерицидному действию ультразвуковой

кавитации. Таким образом, при лечении колонизированных ХР консервативный метод и МД сочетали с процедурой УЗД, которую выполняли однократно, непосредственно перед АДП.

Использование МД и консервативного метода лечения способствовало удалению из ран монокультур и ассоциаций или снижению микробного числа. Перед проведением УЗД 36,4 % ран ($n = 39$) имели отрицательный результат посева. У 68 (63,6 %) пациентов в ранах сохранялись микроорганизмы, которые обнаруживались только после дополнительного культивирования в среде обогащения. Исключение составили *S. aureus* и *E. faecalis*, которые после подготовки ран высевались из первичного посева на плотные среды. Процедура УЗД обеспечивала полное удаление из ран монокультур CoNS и большинства видов энтеробактерий, а также ряда ассоциаций. Непосредственно перед АДП у 66,3 % пациентов ($n = 71$) из ран не высевались микроорганизмы. В остальных случаях (33,7 %, $n = 36$) в ранах обнаруживались только монокультуры, выделенные на плотных питательных средах (*S. aureus* в количестве $\leq 10^5$ КОЕ/мл) или из среды обогащения – *E. faecalis* ($n = 2$), *P. aeruginosa* ($n = 2$), *P. mirabilis* ($n = 1$), *K. pneumoniae* ($n = 1$) (табл. 3).

Результат выполненной АДП у 80,4 % пациентов ($n = 86$), имеющих колонизированные раны на момент поступления, был успешным, с полным приживлением лоскута и заживлением раны. У 19,6 % пациентов ($n = 21$) в послеоперационном периоде наблюдался лизис лоскута. Среди этих пациентов у 13 человек на момент проведения АДП из ран высевались монокультуры *S. aureus* ($n = 9$; $\leq 10^5$ КОЕ/мл: $n = 5$; качественное определение: $n = 4$), *P. aeruginosa* ($n = 2$, качественно), *P. mirabilis* ($n = 1$, качественно), *K. pneumoniae* ($n = 1$, качественно), эти же виды сохранялись на фоне лизиса лоскута. У 8 пациентов результат посева был отрицательным. Анализ свойств изолятов показал наличие выраженной способности к формированию ОВ биопленки и секреции защитных протеаз. Необходимо отметить, что у всех пациентов с состоявшимся лизисом лоскута на момент поступления результаты гистологического исследования соответствовали Sp 3 ($n = 21$), Si 3 ($n = 10$), Si 2 ($n = 11$). Несмотря на использование МД, к моменту проведения АДП наряду с вновь образованными здоровыми грануляциями в ранах оставалась грануляционная ткань с признаками атрофии или рубцового перерождения, в некоторых случаях раны имели подрытый, рубцово-измененный край. Дополнительную подготовку ран после лизиса лоскута проводили с использованием ВТ, основываясь на основных эффектах отрицательного давления на раневую процесс: оптимизации процесса формирования грануляционной ткани за счет улучшения перфузии раневого ложа, стимуляции миграции и пролиферации клеток, усиления неангиогенеза, а также деконтаминации раны за счет активного удаления раневого отделяемого [1]. После этапа ВТ, сроки которого составляли 10,0 (6,0; 15,0) сут (95 % ДИ: 10,38–14,69), проводили УЗД и выполняли АДП. Микробиологический анализ раневого отделяемого, проведенный непосредственно перед АДП, показал отсутствие роста микробиоты. Повторное пластическое закрытие во всех случаях было успешным.

Возникновение у части пациентов лизиса лоскута можно объяснить недооценкой потенциального клинического значения изолятов *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, обнаруживаемых в количестве $\leq 10^5$ КОЕ/мл или при качественном определении. Присутствие персистентных свойств (образование биопленки, секреция протеаз) в сочетании с патогенным потенциалом и наличием генов вирулентности у определенных видов бактерий, колонизирующих ХР, обуславливает возможность негативного влияния на процесс заживления, что подтверждалось сочетанием морфологических признаков нарушений пролиферации и воспаления, а также клиническими признаками патологических изменений грануляционной ткани. Недостаточная эффективность дебридмента у таких пациентов определяет необходимость включения дополнительного метода аппаратного лечения (ВТ), который обеспечит, с одной стороны, дополнительную санацию раны, а с другой – достаточную активацию репаративных процессов и созревание здоровой грануляционной ткани.

Учитывая качественные и количественные характеристики микробиоты, патологическое состояние грануляционной ткани и другие клинические признаки критической колонизации и инфекции по NERDS и STONEES, преобладание выраженных и умеренных морфологических признаков воспаления (Si 2 и Si 3) в сочетании с минимальными и умеренными признаками нарушений пролиферации (Sp 1 и Sp 2), с целью эффективного очищения раны и удаления микроорганизмов в протокол местного лечения критически колонизированных и инфицированных ХР включали две процедуры УЗД, первую из которых комбинировали с МД. На основании

Т а б л и ц а 3. Качественная и количественная характеристика микробиоты колонизированных хронических ран в динамике лечения

T a b l e 3. Qualitative and quantitative characteristics of the microbiota of colonized chronic wounds in the dynamics of treatment

Микробиота	Перед операцией УЗД, n (%)				Перед АДП, n (%)			
	>10 ⁵ КОЕ/мл	≤10 ⁵ КОЕ/мл	К	Роста нет	>10 ⁵ КОЕ/мл	≤10 ⁵ КОЕ/мл	К	Роста нет
Монокультуры (n = 67)								
<i>S. aureus</i> (n = 33)	2 (6)	13 (39,4)	13 (39,4)	5 (15,2)	0	10 (30,3)	10 (30,3)	13 (39,4)
CoNS (n = 8)	0	0	3 (37,5)	5 (62,5)	0	0	0	8 (100)
<i>E. faecalis</i> (n = 7)	0	1 (14,3)	4 (57,1)	2 (28,6)	0	0	2 (28,6)	5 (71,4)
<i>P. aeruginosa</i> (n = 6)	–	–	3 (50)	3 (50)	–	–	2 (33,3)	4 (66,7)
Энтеробактерии (n = 9)	0	0	4 (44,4)	5 (55,6)	0	0	0	9 (100)
<i>Streptococcus viridans</i> (n = 1), <i>C. albicans</i> (n = 3)	–	0	0	4 (100)	–	0	0	4 (100)
Ассоциации (n = 40)								
	2 вида	1 вид		Роста нет	2 вида	1 вид		Роста нет
Энтеробактерии + Грам(+) бактерии (n = 13)	3 (23,1) <i>S. aureus</i> , 3 <i>K. oxytoca</i> , 2 <i>E. coli</i> , 1	7 (53,8) <i>S. aureus</i> , 2 <i>E. faecalis</i> , 1 <i>K. planticola</i> , 1 <i>P. mirabilis</i> , 1 <i>K. pneumoniae</i> , 1 <i>E. cloacae</i> , 1		3 (23,1)	0	4 (30,8) <i>S. aureus</i> , 2 <i>P. mirabilis</i> , 1 <i>K. pneumoniae</i> , 1		9 (69,2)
НФБ + Грам(+) бактерии (n = 4)	0	2 (50) <i>A. baumannii</i> <i>P. putida</i>		2 (50)	0	0		4 (100)
Грам(+) ассоциации (n = 19)	2 (10,5) <i>S. aureus</i> + <i>E. faecalis</i>	8 (42,1) <i>S. aureus</i>		9 (47,4)	0	8 (42,1) <i>S. aureus</i>		11 (57,9)
Грам(-) ассоциации (n = 2)	0	2 (100) <i>P. fluorescens</i> <i>K. aerogenes</i>		0	0	0		2 (100)
CoNS + <i>Candida non-albicans</i> (n = 1)	0	0		1 (100)	0	0		1 (100)
<i>A. iwoffii</i> + <i>C. freundii</i> + <i>S. aureus</i> (n = 1)	0	<i>S. aureus</i>		0	0	0		1 (100)

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 4, 5: К – качественное определение; НФБ – неферментирующие бактерии.

результатов микробиологического посева ран только пациентам с инфицированными ранами назначали АБС в связи с наличием риска возникновения системной инфекции.

Использование двух процедур УЗД в сочетании с МД и антибактериальной терапией приводило к исчезновению клинических симптомов инфекции, заполнению раны нормальными мелкозернистыми розовыми грануляциями и достижению необходимых признаков готовности раны к АДП. Интраоперационное микробиологическое исследование, выполненное после второй процедуры УЗД, показало, что 89,7 % ран (n = 26) на момент выполнения АДП имели отрицательные результаты посева (табл. 4).

Как указывалось ранее, бактерии, выделенные на момент поступления из инфицированных ХР, реже обладали выраженной способностью формировать ОВ биопленки (см. табл. 1, 2), которое является основным защитным барьером для АБС и клеток иммунной системы. В связи с этим для таких категорий ран является ожидаемой эффективностью системной антибактериальной терапии, дополненной санирующими механизмами двух процедур УЗД. Результат АДП для всех ран, имеющих на момент поступления признаки инфекции (n = 29), был успешным, с приживлением лоскута.

Комбинированный дебридмент критически колонизированных ХР не во всех случаях обеспечивал необходимую санацию ран, особенно при выделении микроорганизмов в количестве

Таблица 4. Качественная и количественная характеристика микробиоты инфицированных хронических ран в динамике лечения

Table 4. Qualitative and quantitative characteristics of the microbiota of infected chronic wounds in the dynamics of treatment

Микробиота	После МД и 1-го УЗД, n (%)				После 2-го УЗД (перед АДП), n (%)			
	>10 ⁵ КОЕ/мл	≤10 ⁵ КОЕ/мл	К	Роста нет	>10 ⁵ КОЕ/мл	≤10 ⁵ КОЕ/мл	К	Роста нет
Монокультуры (n = 10)								
<i>S. aureus</i> (n = 4)	0	1 (25)	2 (50)	1 (25)	0	0	0	4 (100)
<i>P. aeruginosa</i> (n = 1)	0	0	1 (100)	0 (0)	0	0	0	1 (100)
<i>A. baumannii</i> (n = 5)	0	2 (14,3)	3 (57,1)	0 (0)	0	0	1 (20)	4 (80)
Ассоциации (n = 19)								
НФБ + энтеробактерии (n = 3)	2 вида	1 вид	Роста нет	2 вида	1 вид	Роста нет		
	0	2 (66,7) <i>P. mirabilis</i> , 1 <i>P. aeruginosa</i> , 1	1 (33,3)	0	0	3 (100)		
НФБ + Грам(+) бактерии (n = 6)	1 (16,7) <i>P. aeruginosa</i> , 1 <i>S. aureus</i> , 1	3 (50) <i>A. baumannii</i> , 2 <i>E. faecalis</i> , 1	2 (33,3)	0	0	6 (100)		
	1 (20) <i>S. aureus</i> , 1 <i>E. faecalis</i> , 1	2 (40) <i>P. mirabilis</i> , 2	2 (40)	0	1 (20) <i>P. mirabilis</i> , 1	4 (80)		
Энтеробактерии + Грам(+) бактерии (n = 5)	2 (100) <i>S. aureus</i> , 2 <i>E. faecalis</i> , 2	0	0	0	0	2 (100)		
Грамм(+) ассоциации (n = 2)	1 (33,3) <i>P. aeruginosa</i> , 1 <i>P. mirabilis</i> , 1	1 (33,3) <i>P. mirabilis</i> , 1	1 (33,4)	0	1 (33,3) <i>P. mirabilis</i> , 1	1 (33,4)		

>10⁵ КОЕ/мл на момент поступления пациентов. После проведения предоперационной подготовки происходило снижение микробной «нагрузки», что выражалось в уменьшении общего числа выделенных культур и их количественных характеристик. На момент проведения АДП у 47,5 % пациентов (n = 28) обнаруживались только монокультуры микроорганизмов в количестве ≤10⁵ КОЕ/мл или выделенные из среды обогащения. У 52,5 % пациентов (n = 31) по результатам лечения рост микроорганизмов отсутствовал (табл. 5).

После АДП у 25 пациентов, имевших критически колонизированные раны на момент поступления, регистрировался лизис лоскута. Ретроспективный анализ результатов показал, что на момент поступления у 12 человек в биоптатах ран регистрировалась выраженная активность гнойного воспаления (Si 3), из ран высевались монокультуры *S. aureus*, *P. aeruginosa* и ассоциации, представленные Грам(+) и Грам(-) бактериями, количество которых составляло >10⁵ КОЕ/мл. Микробиологические характеристики, отражающие патогенный потенциал изолятов, отсутствие выраженной способности формировать ОВ биопленки, постоянное обнаружение бактерий в ходе лечения пациентов обосновали необходимость применения АБС. Антибактериальную терапию проводили после лизиса лоскута на основании результатов посева раневого отделяемого, местное лечение ран осуществлялось «под повязкой». Непосредственно перед повторной АДП пациентам выполняли УЗД. Интраоперационное микробиологическое исследование показало отсутствие роста бактерий, в 100 % случаев результат АДП был успешным. У 13 пациентов с лизисом лоскута на момент поступления результаты морфологической оценки биоптатов ран соответствовали Sp 3 в сочетании с Si 1 или Si 2, микроорганизмы выделялись в количестве ≤10⁵ КОЕ/мл и характеризовались умеренной и выраженной способностью формировать ОВ биопленки и секретировать протеазы (АКА, АЛА, АИА). Для достижения необходимой активации репаративных процессов у 13 пациентов после лизиса лоскута лечение ран проводили с использованием ВТ, затем для деконтаминации раны выполняли УЗД. Результатом повторной АДП было приживление лоскута и заживление раны.

Т а б л и ц а 5. Качественная и количественная характеристика микробиоты критически колонизированных хронических ран в динамике лечения

Т a b l e 5. Qualitative and quantitative characteristics of the microbiota of critically colonized chronic wounds in the dynamics of treatment

Микробиота	После МД и 1-го УЗД, n (%)				После 2-го УЗД (перед АДП), n (%)			
	>10 ⁵ КОЕ/мл	≤10 ⁵ КОЕ/мл	К	Роста нет	>10 ⁵ КОЕ/мл	≤10 ⁵ КОЕ/мл	К	Роста нет
Монокультуры (n = 22)								
<i>S. aureus</i> >10 ⁵ КОЕ/мл (n = 6)	1 (16,7)	4 (66,6)	1 (16,7)	0	0	2 (33,4)	0	4 (66,7)
<i>S. aureus</i> ≤10 ⁵ КОЕ/мл (n = 5)	–	2 (40)	3 (60)	0	–	0	2 (40)	3 (60)
<i>P. aeruginosa</i> >10 ⁵ КОЕ/мл (n = 5)	2 (40)	2 (40)	1 (20)	0	0	3 (60)	1 (20)	1 (20)
<i>P. aeruginosa</i> ≤10 ⁵ КОЕ/мл (n = 2)	–	0	2 (100)	0	0	0	0	2 (10)
<i>A. baumannii</i> >10 ⁵ КОЕ/мл (n = 2)	0	2 (100)	0 (0)	0	0	0	1 (50)	1 (50)
<i>K. pneumoniae</i> (n = 2)	0	0	2 (100)	0	0	0	1 (50)	1 (50)
Ассоциации (n = 37)								
Энтеробактерии + Грам(+) бактерии (n = 12)	2 вида	1 вид	Роста нет	Роста нет	2 вида	1 вид	Роста нет	Роста нет
	3 (25) <i>S. aureus</i> , 3 <i>P. mirabilis</i> , 3	8 (66,7) <i>S. aureus</i> , 3 <i>P. mirabilis</i> , 2 <i>E. faecalis</i> , 3			1 (8,3)	0		
НФБ + Грам(+) бактерии (n = 21)	12 (57,1) <i>S. aureus</i> , 11 <i>P. aeruginosa</i> , 7 <i>A. baumannii</i> , 5 <i>E. faecalis</i> , 1	9 (42,9) <i>P. aeruginosa</i> , 6 <i>E. faecalis</i> , 3	0	0	0	10 (47,6) <i>P. aeruginosa</i> , 5 <i>A. baumannii</i> , 2 <i>S. aureus</i> , 3	11 (52,4)	
НФБ + энтеробактерии (n = 1)	1 (100) <i>P. aeruginosa</i> , 1 <i>P. mirabilis</i> , 1	0	0	0	0	0	1 (100)	
НФБ + энтеробактерии + Грам(+) бактерии (n = 3)	3 (100) <i>P. mirabilis</i> , 3 <i>A. baumannii</i> , 3	0	0	0	0	2 (66,7) <i>P. mirabilis</i> , 1 <i>S. aureus</i> , 1	1 (33,3)	

Выводы

1. Отсутствие локальных клинических признаков воспаления, нормальное состояние грануляций (мелкозернистые, бледно-розовые, плотные, блестящие), отрицательный результат микробиологического посева раневого отделяемого, отсутствие выраженных морфологических признаков воспаления (Si 1 или Si 2) и явных признаков нарушения пролиферации (Sp 1 или Sp 2) в биоптатах грануляционной ткани обосновывают возможность проведения предоперационной подготовки «под повязкой» и выполнения перед АДП только МД. Данный метод был успешно применен у 14,8 % пациентов (n = 34) с ХР.

2. Потенциальные патогены, колонизирующие ХР, например *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, обладающие выраженной АА, способностью формировать ОВ биопленки и секретировать протеазы, генами вирулентности и вариабельностью проявлений идентификационных свойств (например, гемолитическая, лецитовителлазная активность для *S. aureus*, «роящийся» рост для *P. mirabilis*), оказывают негативное влияние на процесс заживления, что подтверждается морфологическими признаками выраженных нарушений пролиферации (Sp 3) в сочетании с воспалением (Si 2 или Si 3) и клиническим состоянием грануляций (наличие атрофии, рубцового перерождения). Для предотвращения развития лизиса аутодермотрансплантата пациентам с такими ранами показано использование двух процедур УЗД (1-я – в сочетании с МД, 2-я – непосредственно перед АДП), между которыми для лечения раны используется ВТ. Для остальных категорий колонизированных ХР вместо ВТ рекомендуется ведение раны «под повязкой».

3. Имеющие морфологические признаки Sp 3 и Si 1/Si 2 критически колонизированные раны (три и более признака по NERDS), из которых выделяются микроорганизмы в количестве

$\leq 10^5$ КОЕ/мл, обладающие персистентными свойствами (био пленка, АКА, АЛА, АИА), являются показанием к использованию ВТ, которая выполняется между двумя процедурами УЗД.

4. Наличие клинических признаков инфекции по STONEES, крупнозернистых ярко-красных легко травмируемых грануляций в ране, а также морфологических признаков Si 3 или Si 2, Sp 1 или Sp 2 является показанием к использованию двух процедур УЗД (1-я – вместе с МД, 2-я – непосредственно перед АДП) в сочетании с системной антибактериальной терапией на основании результатов посева раневого отделяемого. Между процедурами УЗД используется метод лечения «под повязкой». Аналогичный вариант лечения рекомендован для критически колонизированных ран, из которых этиологически значимые бактерии выделяются в количестве $>10^5$ КОЕ/мл.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследование выполнено в рамках гранта Президента Республики Беларусь в области здравоохранения (письмо Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 20.01.2018 № 14-12/896) и в рамках задания НИР ГПНИ 4 на 2021–2025 гг. по теме «3.20 Изучение патогенного потенциала клинически значимых штаммов бактерий для повышения эффективности системы инфекционного контроля в стационаре».

Acknowledgements. The study was carried out within the framework of a grant from the President of the Republic of Belarus in the field of healthcare (the letter of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated January 20, 2018 No. 14-12/896) and within the framework of the research assignment 4 of the State Public Research Institute for 2021–2025 on the topic “3.20 Studying the pathogenic potential of clinically significant bacterial strains to improve the efficiency of the infection control system in a hospital.”

Список использованных источников

1. Оболенский, В. Н. Современные методы лечения хронических ран / В. Н. Оболенский // Мед. совет. – 2016. – № 10. – С. 148–154.
2. Harries, R. L. Wound bed preparation: TIME for an update / R. L. Harries, D. C. Bosanquet, K. G. Harding // *Int. Wound J.* – 2016. – Vol. 13, suppl. 3. – P. 8–14. <https://doi.org/10.1111/iwj.12662>
3. Woo, K. Y. A cross-sectional validation study of using NERDS and STONEES to assess bacterial burden / K. Y. Woo, G. R. Sibbald // *Octomy Wound Management.* – 2009. – Vol. 55, N 8. – P. 40–48.
4. International Wound Infection Institute (IWII) Wound infection in clinical practice. *Wounds International.* 2016 [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.woundsinternational.com/resources/details/iwii-wound-infection-clinical-practice/>. – Date of access: 28.07.2022.
5. Wound infection in clinical practice. An international consensus [editorial] // *Int. Wound J.* – 2008. – Vol. 5, N S3. – P. iii–11. <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2008.00488.x>
6. Ярец, Ю. И. Методология микробиологического посева раневого отделяемого в рамках современных представлений о диагностике инфекционного процесса / Ю. И. Ярец, Н. И. Шевченко, В. Ф. Еремин // *Лаб. служба.* – 2021. – Т. 10, № 3. – С. 33–42.
7. Dinesh, K. A study on ESKAPE pathogens the bad bug with no drug / K. Dinesh, M. Karthick // *Tropic. J. Pathol. Microbiol.* – 2018. – Vol. 4, N 2. – P. 134–138. <http://doi.org/10.17511/jopm.2018.i02.02>
8. Ярец, Ю. И. Новый метод анализа бактериальной биопленки / Ю. И. Ярец, Н. И. Шевченко // *Наука и инновации.* – 2016. – № 10. – С. 64–68.
9. Клинические рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам, Версия 03.2018 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2018.pdf/>. – Дата доступа: 28.07.2022.
10. Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам. Таблицы пограничных значений для интерпретации значений МПК и диаметров зон подавления роста. Версия 10.0, 2020 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://iacmac.ru/ru/docs/eucast/eucast-clinical-breakpoints-bacteria-10.0-rus.pdf/>. – Дата доступа: 14.06.2022.
11. Информативность цитологического и гистологического методов исследования для оценки состояния воспалительной и пролиферативной фаз репарации гранулирующей раны / Ю. И. Ярец [и др.] // *Мед.-биол. проблемы жизнедеятельности.* – 2018. – № 1. – С. 86–94.
12. Chopra, S. Antibiotic susceptibility of ica-positive and ica-negative MRSA in different phases of biofilm growth / S. Chopra, K. Harjai, S. Chhibber // *J. Antibiot.* – 2015. – Vol. 68, N 1. – P. 15–22. <https://doi.org/10.1038/ja.2014.96>
13. Шеремет, А. Б. Третья транспортная система *Pseudomonas aeruginosa* как мишень для разработки антивирулентных препаратов / А. Б. Шеремет, Л. Н. Нестеренко, Н. А. Зигангирова // *Мол. генетика, микробиол. и вирусол.* – 2020. – Т. 38, № 1. – С. 3–14.
14. Expression of *Pseudomonas aeruginosa* toxin ExoS effectively induces apoptosis in host cells / J. Jia [et al.] // *Infect. Immun.* – 2006. – Vol. 74, N 12. – P. 6557–6570. <https://doi.org/10.1128/IAI.00591-06>

References

1. Obolenskii V. N. Modern treatment methods of the chronic wounds. *Meditsinskii sovet* [Medical advice], 2016, no. 10, pp. 148–154 (in Russian).
2. Harries R. L., Bosanquet D. C., Harding K. G. Wound bed preparation: TIME for an update. *International Wound Journal*, 2016, no. 13, suppl. S3, pp. 8–14. <https://doi.org/10.1111/iwj.12662>

3. Woo K. Y., Sibbald G. R. A cross-sectional validation study of using NERDS and STONEES to assess bacterial burden. *Octomy Wound Management*, 2009, vol. 55, no. 8, pp. 40–48.
4. *International Wound Infection Institute (IWII) Wound infection in clinical practice. Wounds International. 2016.* Available at: <https://www.woundsinternational.com/resources/details/iwii-wound-infection-clinical-practice/> (accessed 28.07.2022).
5. Wound infection in clinical practice. An international consensus [editorial]. *International Wound Journal*, 2008, vol. 5, no. S3, pp. iii–11. <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2008.00488.x>
6. Yarets Yu. I., Shevchenko N. I., Eremin V. F. Methodology of microbiological analysis of wound swabs within the framework of modern concepts of wound infection process. *Laboratornaya sluzhba* [Laboratory service], 2021, vol. 10, no. 3, pp. 33–42 (in Russian).
7. Dinesh K., Karthick M. A study on ESKAPE pathogens the bad bug with no drug. *Tropical Journal of Pathology and Microbiology*, 2018, vol. 4, no. 2, pp. 134–138. <http://doi.org/10.17511/jopm.2018.i02.02>
8. Yarets Yu., Shevchenko N. New method of bacterial biofilm analysis in medicine. *Nauka i innovatsii* [Science and innovation], 2016, no. 10, pp. 64–68 (in Russian).
9. *Clinical recommendations. Susceptibility testing of microorganisms to antimicrobial agents, Version 03.2018.* Available at: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2018.pdf/> (accessed 28.07.2022) (in Russian).
10. *The European Committee on antimicrobial susceptibility testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, Version 10.0, 2020.* Available at: <https://iacmac.ru/ru/docs/eucast/eucast-clinical-breakpoints-bacteria-10.0-rus.pdf/> (accessed 28.07.2022) (in Russian).
11. Yarets Yu. I., Slavnikov I. A., Dundarov Z. A., Shibaeva N. N. Informativeness of cytological and histological research methods for assessing the state of inflammatory and proliferative reparation phases of granulated wounds. *Mediko-biologicheskie problemy zhiznedejatel'nosti* [Medical and biological problems of life activity], 2018, no. 1, pp. 86–94 (in Russian).
12. Chopra S., Harjai K., Chhibber S. Antibiotic susceptibility of ica-positive and ica-negative MRSA in different phases of biofilm growth. *Journal of Antibiotics*, 2015, vol. 68, no. 1, pp. 15–22. <https://doi.org/10.1038/ja.2014.96>
13. Sheremet A. B., Nesterenko L. N., Zigangirova N. A. *Pseudomonas aeruginosa* type three-secretion system as a target for development of antivirulence drugs. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya* [Molecular genetics, microbiology and virology], 2020, vol. 38, no. 1, pp. 3–14 (in Russian).
14. Jia J., Wang Y., Zhou L., Jin S. Expression of *Pseudomonas aeruginosa* toxin ExoS effectively induces apoptosis in host cells. *Infection and Immunity*, 2006, vol. 74, no. 12, pp. 6557–6570. <https://doi.org/10.1128/IAI.00591-06>

Информация об авторах

Ярець Юлія Ігорэўна – канд. мед. навук, доцент, заведуючы лабораторыяй. Рэспубліканскі навучна-практычны цэнтр радыяцыйнай медыцыны і экалогіі чалавека (ул. Ільіча, 290, 246040, г. Гомель, Рэспубліка Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-8879-5079>. E-mail: artyut@mail.ru

Славніков Ілья Аляксандравіч – канд. мед. навук, доцент. Гомельскі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт (ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель, Рэспубліка Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-6431-4090>. E-mail: slaunikau@mail.ru

Information about the authors

Yuliya I. Yarets – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology (290, Ilyich Str., 246040, Gomel, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-8879-5079>. E-mail: artyut@mail.ru

Ilya A. Slavnikov – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246000, Gomel, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-6431-4090>. E-mail: slaunikau@mail.ru