

Диагностика бактериемии у больного с тяжёлой ожоговой травмой методом масс-спектрометрии микробных маркёров

С.В. Смирнов, В.С. Борисов, Т.А. Васина, Г.А. Осипов

НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

Ведущей причиной смерти ожоговых больных является интоксикация (36,6 %), на втором месте находится пневмония (25,9 %). Инфекционные осложнения отягощают течение ожоговой болезни и в значительной мере влияют на клинический исход. На клиническом примере показана эффективность использованной нами методики исследования состава микробных маркёров в крови методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии, применение которой позволило получить данные о микробиологическом спектре пациента уже через несколько часов после отбора пробы и тем самым своевременно назначить рациональную антибиотикотерапию.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, интоксикация, сепсис, рациональная антибактериальная терапия, микробные маркёры, масс-спектрометрия.

Ожоговая травма в развитых странах является одним из самых распространённых видов повреждений мирного времени. По данным ВОЗ, на термические поражения приходится 6 % от всех травм, при этом число пострадавших в промышленно развитых странах постоянно возрастает [7]. Ежегодно в России регистрируется более 800 тыс. случаев ожоговой травмы различной степени тяжести, и частота их составила в среднем 300–350 случаев на 10 тыс. населения [1, 5]. На протяжении последних лет ожоги прочно сохраняют за собой второе место в общей структуре травматизма, лечение обожжённых является сложным и высокотратным процессом. Удельный вес летальности среди всех видов травм у ожоговых больных достигает 9 % [1, 6]. По экспертным оценкам, ежегодно в России погибает свыше 20 тыс. человек. Ведущей причиной смерти является интоксикация (36,6 %), на втором месте среди причин смерти находится пневмония (25,9 %). Ожоговый шок занимает третье место среди причин смерти – 13,7 % [3]. Инфекционные осложнения, угрожая жизни тяжелообожжённых с первых дней после травмы, отягощают течение ожоговой болезни и в значительной мере влияют на клинический исход. Частота инфекционных осложнений при ожоговой болезни столь велика, что от решения вопросов борьбы с инфекцией во многом зависит прогресс в лечении обожжённых [4]. В связи с этим оценка микробиологического профиля госпитальной инфекции, определение ведущих патогенов и их антибиотикорезистентности, анализ новых эпидемиологических тенденций является ос-

новой рациональной антимикробной терапии в клинике термических поражений [3]. По данным ретроспективного анализа микрофлоры раневого отделяемого у ожоговых больных, по-прежнему ведущая роль в этиологической структуре госпитальной инфекции принадлежит стафилококкам (*Staphylococcus aureus*), их удельный вес составил 36,1 %, на втором месте грамотрицательные бактерии, особенно *Pseudomonas aeruginosa* – 29,5 %. Особое внимание обращает на себя серьёзное увеличение этиологической значимости *Acinetobacter* spp. – 16,7 % [3].

Микробиологический мониторинг является одним из важных факторов предупреждения и распространения устойчивости госпитальных штаммов к антимикробным препаратам. Своевременно полученные данные о наличии в ожоговой ране возбудителя позволяет в кратчайшие сроки провести ротацию эмпирической антибактериальной терапии на рациональную терапию. Однако получение результатов посевов отделяемого с ран или посева крови при подозрении на септический процесс ограничивается 5–7 днями, в течение которых врач вынужден продолжать, возможно, не самую эффективную схему антибактериальной терапии тяжелообожжённого. Поэтому впервые использованная нами методика исследования состава микробных маркёров в крови методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии, позволяющая получить данные о микробиологическом спектре пациента уже через несколько часов, способна сократить время выбора рациональной антибиотикотерапии и, возможно, решить исход течения ожоговой болезни в сторону выздоровления [8].

Клинический случай

Пациент Б. А. Р. 1979 г. р. поступил в Московский городской ожоговый центр 29.12.2011 с диагнозом: ожог пламенем II–ШАБ степени 53 % п. т. (ШБ – 45 % п. т.) грудной клетки, передней брюшной стенки, обеих плеч, предплечий, кистей, ягодиц, промежности, половых органов, бедер, голеней, стоп. Тяжёлая ожоговая болезнь, период септикотоксемии. Транзиторная бактеремия. Делириозное расстройство сознания. Органическое заболевание ЦНС с галлюциногенным синдромом. Посттравматическая стрессовая реакция.

История заболевания. Больной Б. доставлен 29.12.2011 из клинической больницы № 4 Грозного санавиацией, госпитализирован в реанимационное отделение городского ожогового центра НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

Обстоятельства травмы: 25.11.11 около 12:30 получил ожоги пламенем в быту. После получения травмы доставлен в Гудермесскую ЦРБ, откуда после оказания первой помощи переведён в реанимационное отделение ГКБ № 4 Грозного, где находился на лечении в течение 34 дней. В отделении выполнялись этапные некрэктомии, проводилась патогенетическая и симптоматическая терапия. При поступлении в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского: состояние тяжёлое, в сознании. Вялый, адинамичен. Жалобы на боли в ранах. Отмечается гектический характер температурной кривой. Непоражённые кожные покровы бледные. Дыхание самостоятельное через естественные дыхательные пути, проводилось во все отделы; в нижних отделах сухие хрипы, ЧД 18 в 1 мин. Тоны сердца приглушены, ритмичны, АД 120/80 мм рт. ст. PS 106/мин. Язык влажный. Живот мягкий, подвздут, при пальпации б/болезненный, перистальтика ослаблена. Мочеиспускание самостоятельно. В анализах: Нв – 78 г/л; эр. – 2,77; лейкоц. – 6,37; метамиелоциты – 3, п/я нейтр. – 13; с/я – 53; эоз. – 2 %; лимф. – 37; моноциты – 5,2, тромб. – 287; общ. белок – 49,06 г/л; СОЭ – 45 мм/ч, мочевины – 3,33; глюкоза – 7,84; калий – 3,53; натрий – 132,8; билир. общий – 9,4. Рентген лёгких 29.12.2011: усиление лёгочного рисунка с обеих сторон за счёт сосудистого компонента. Контуры структурны, синусы свободные. Посевы из раны от 30.12.2011 *Pseudomonas aeruginosa*. В реанимационном отделении больному проводилась инфузионно-трансфузионная, антибактериальная (цефотаксим по 1,0 4 раза в/в), симптоматическая и патогенетическая терапия. Неоднократно проводились трансфузии эр. массы, СЗП, в том числе антистафилококковой СЗП № 8 (2400 мл). Нутритивная поддержка обеспечивалась энтеральными смесями (Нутрикомп 2000 мл). Регулярно выполнялись перевязки ожоговых ран. После стабилизации состояния 09.01.2012 переведён в госпитальное отделение для дальнейшего лечения. При переводе состояние больного тяжёлое, температурная реакция с подъёмами вечером свыше 38,2 °С. В целях максимального закрытия гранулирующих ран

общей площадью 45 % поверхности тела решено в кратчайшие сроки выполнить I этап аутодермопластики (АДП). 10.01.2012 под ЭТН выполнена АДП 17 % п. т. Оставшиеся гранулирующие раны до 25 % п. т. с обильным гнойным отделяемым. В послеоперационном периоде прогрессировала анемия, нарастали признаки интоксикации, что привело к развитию делириозного расстройства сознания с галлюциногенным синдромом. С 13.01.2012 ежедневно подъёмы t до 38,5 с ознобами. Усилена антибактериальная терапия: диоксидин 1 % – 10,0 2 раза внутривенно. 15.01.2012 в связи с неэффективностью отменён цефотаксим 2,0 2 раза, дополнительно назначен метрогил 100,0 2 раза в/в. С 16.01.2012 отмечается снижение t до субфебрильных цифр. В крови лейкоциты 10,8, п/я – 9 %, с/я 62 %, СОЭ 28. Посевы из раны: 16.01.2012 *Corinebacterium* sp. 10⁶, *Enterobacter* sp. 10⁶, *P. Aeruginosa* 10⁶, *Proteus* sp. 10⁵.

Рентген лёгких 16.01.2012 контроль: очаговых теней не выявлено, умеренно усилен лёгочный рисунок в верхних отделах лёгких.

Подготовлен к II этапу оперативного лечения. 24.01.2012 под ЭТН выполнена АДП 15 % п. т. 27.01.2012. отмечается снова подъём t выше 38,2. Отмечено гнойное расплавление заживших участков ША степени. Учитывая длительно проводимую антибактериальную терапию с неудовлетворительным клиническим результатом, принято решение провести диагностику микробных маркёров в крови методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии (см. таблицу). Метод масс-спектрометрии микробных маркёров (МСММ) использует детектирование микроорганизмов по видоспецифичным высшим жирным кислотам (ЖК) их клеточной стенки [2, 8]. Он сходен с генетическим анализом (ПЦР, определение последовательности нуклеотидов 16s-rРНК и пр.), поскольку состав жирных кислот закодирован в ДНК и воспроизводится путём репликации участка генома транспортными РНК и последующего синтеза ЖК в митохондриях по матричным РНК. Известно, что хемотропная дифференциация микроорганизмов по клеточным ЖК коррелирует с их генетической классификацией. Для реализации метода используется хромато-масс-спектрометрия с мультиионным селективным детектированием структурных ЖК – маркёров микроорганизмов. Метод около 15 лет проходил апробацию в медицинских учреждениях Москвы. В 2010 г. Росздравнадзором разрешено его применение в качестве новой медицинской технологии «Оценки микроразнообразия статуса человека методом хромато-масс-спектрометрии» на территории Российской Федерации (Разрешение ФС 2010/038 от 24.02.2010).

В результате анализа обнаружен тройной дефицит кишечной микрофлоры из-за недостатка лактобацилл, эубактерий, бифидобактерий и пропионобактерий. При этом выше нормы оказалась концентрация маркёров *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis*, ба-

Таблица. Реконструкция микробиологического статуса пациента по технологии масс-спектрометрии микробных маркеров. В таблице и на диаграмме показана численность микроорганизмов в клетках/г с домножением на коэффициент 10^5 .

№	Микроорганизм	Проба, кл/г $\times 10^5$	Норма
1	Streptococcus (оральные)	208	249
2	Eubacterium lentum (группа A)	126	68
3	Bacillus cereus	52	23
4	Nocardia, 14:1d11	183	262
5	Moraxella/Acinetobacter	1	0
6	Pseudomonas aeruginosa	8	0
7	Streptomyces	42	62
8	Clostridium ramosum	1681	2000
9	Fusobacterium/Haemophilus	4	0
10	Alcaligenes	22	48
11	Lactobacillus	1862	6613
12	Campylobacter mucosalis	14	99
13	Candida	134	549
14	сем. Enterobacteriaceae (E. coli)	0	0
15	Prevotella	39	38
16	Eubacterium/Cl. Coccoides	1250	6912
17	Bacteroides fragilis	11	0
18	Staphylococcus	97	120
19	Bifidobacterium	1325	5067
20	Helicobacter pylori, h18	23	14
21	Clostridium perfringens	97	12
22	Enterococcus	0	290
23	Eubacterium (копраностол)	5414	59
24	Propionibacterium	719	4480
25	Streptococcus mutans	72	229
26	Nocardia asteroides	222	274
27	Цитомегаловирус	77	166
28	Ruminococcus	466	640
29	Actinomyces 10Me14	67	309
30	Actinomyces viscosus	244	1190
Сумма		14432	29774
Плазмодоген (по 16а), мкг/мл		14,53	50
Эндотоксин (сумма), нмоль/мл		0,89	0,5

цилл, *Pseudomonas aeruginosa*, группы *Fusobacterium/Haemophilus*. В тощей кишке зафиксирована активность штаммов эубактерий, продуцирующих копростанол, на два порядка выше обычного уровня, что характерно для фекалий (но не для тощей кишки).

После получения результатов исследования пациенту рекомендовано проведение антибиотикотерапии по следующей схеме: трифамокс 1,5 3 раза в/в, амикацин 1,0 1 раз в/в, метрогил 100,0 2 раза в/в. Назначенная своевременно согласно полученным данным схема рациональной антибактериальной терапии позволила не допустить развития гнойно-септических осложнений у больного с тяжелой ожоговой травмой. К 03.02.2012 состояние стабилизировалось, температура нормализовалась, больной Б. успешно подготовлен к III этапу аутодермопластики.

Послеоперационный период и активизация без особенностей. Выписан в удовлетворительном со-

стоянии по месту жительства с восстановленным кожным покровом.

Вывод

Методика исследования состава микробных маркеров в крови методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии, позволяющая получить данные о микробиологическом спектре пациента уже через несколько часов, способна значительно сократить время на подбор рациональной антибиотикотерапии и эффективно противостоять развитию гнойно-септических осложнений.

Литература

1. Алексеев А.А., Лавров В.А. Актуальные вопросы организации и состояние медицинской помощи пострадавшим от ожогов в Российской Федерации // II съезд комбустиологов России. – М., 2008. – С. 3–5.
2. Годков М.А., Осипов Г.А., Федосова Н.Ф., Лядов К.В. Возможности масс-спектрометрии микробных маркеров в лабораторном мониторинге дисбиозов и инфекций // Справочник заведующего КДЛ. – 2011. – № 7. – С. 35–44.
3. Гординская Н.А., Пылаев С.И., Сабирова Е.В., Абрамова Н.В. Значение микробиологического мониторинга в реабилитации тяжелообожженных // II съезд комбустиологов России. – М., 2008. – С. 82–83.
4. Крутиков М.Г. Современные технологии диагностики и лечения ожогового сепсиса: реалии и перспективы // II съезд комбустиологов России. – М., 2008. – С. 104–105.
5. Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги: руководство для врачей. – СПб.: Спецлит, 2000. – С. 130–224.
6. Смирнов С.В., Борисов В.С., Логинов Л.П. и др. Пути улучшения оказания качества и объема медицинской помощи на догоспитальном этапе больным с термической травмой // Регион. НПК «Актуальн. вопр. скорой мед. помощи, медицины катастроф, комбустиол., неотл. хир. на догосп. этапе». – Уфа, 2007. – С. 64–65.
7. Atiyeh B.S., Gunn S.W.A., Hayek S.N. Military and civilian burn injuries during armed conflicts // Annals of Burns and Fire Disasters – vol. n. December 2007.
8. Osipov G.A., Boiko N.B., Fedosova N.F., Lydov K.V. Comparative gas chromatography-mass spectrometry study of the composition of microbial chemical markers in feces // Microbial Ecology in Health and Disease, December 2009, Vol. 21, No. 3–4, P. 159–171.

Diagnostics of bacteriemia in severe burn trauma by mass-spectrometry of bacterial markers

S.V. Smirnov, V.S. Borisov, T.A. Vasina, G.A. Osipov
Skifosovsky SRI for Emergency Medicine, Moscow

The leading cause of death of burn patients is intoxication (36,6 %), the second cause of death is pneumonia (25,9 %), infectious complications during the burn disease burden and significantly influence the clinical outcome. Presented clinical case shows the efficiency of our research methodology – detection of microbial markers in blood by gas chromatography-mass-spectrometry, which provides data on the microbiological spectrum of patient already in few hours and thus, allows assigning rational antibiotic therapy early.

Keywords: burn disease, intoxication, sepsis, rational antimicrobial therapy, microbial markers, mass-spectrometry.