

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Е.Н. Кроткова

2022 г.

Регистрационный № 013-0422



**МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОБИОТЫ
РАНЕВОГО ОТДЕЛЯЕМОГО И ОЦЕНКИ ЕЁ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ
ЗНАЧИМОСТИ**

(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и
экологии человека», учреждение образования «Гомельский
государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: к.м.н., доцент Ярец Ю.И., к.б.н., доцент Шевченко Н.И., к.м.н.
Славников И.А., к.б.н., доцент Мартинков В.Н., д.м.н., доцент Рожко А.В.,
д.м.н., профессор Дундаров З.А.

Гомель, 2022

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод количественного определения микробиоты раневого отделяемого и оценки её этиологической значимости. Метод включает оценку клинического состояния раны на основании предложенных критериев, описание процедуры взятия и посева раневого отделяемого и алгоритмы интерпретации результатов. Метод может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на диагностику и лечение пациентов с ранами.

Инструкция предназначена для врачей-хирургов, врачей-комбустиологов-хирургов, врачей клинической лабораторной диагностики, иных специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с ранами в амбулаторных условиях и в условиях стационара.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ:

Ожоги третьей степени различной локализации (Т 20.3; Т 21.3; Т 22.3; Т 22.7, Т 23.3; Т 23.7, Т 24.3; Т 24.7, Т 25.3, Т 25.7, Т 20.7, Т 21.7, Т 31.0–Т 31.9).

Раны различных локализаций (S 01.0–S 01.4; S 01.8; S 11.8; S 21.0–S 21.2; S 21.8; S 31.0–S 31.3; S 31.8; S 41.0–S 41.1; S 41.8; S 51.0; S 51.8; S 61.0–S 61.1; S 61.8; S 71.0–S 71.1; S 71.8; S 81.0; S 81.8; S 91.0–S 91.3).

Последствия травм различных локализаций (Т 90.1; Т 91.0; Т 92.0; Т 92.6; Т 93.0; Т 93.4; Т 94.1).

Инфекции кожи и подкожной клетчатки (L 02.0–L 02.4; L 02.8; L 03.0–L 03.3; L 03.8);

Хронические язвы кожи (Е 10.6; Е 11.6, I 83.0; I 83.2, L 89, L 97, L 98.4).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ: отсутствуют.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ, РЕАКТИВОВ, ОБОРУДОВАНИЯ:

1. стандартное оборудование, расходные материалы, реактивы, питательные среды и др., используемые для проведения бактериологических лабораторных исследований;
2. стандартное оборудование, расходные материалы, реактивы и др., используемые для проведения исследований методом ПЦР.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1. Преаналитический этап

1.1 Преаналитический этап количественного определения микробиоты раневого отделяемого и оценки её этиологической значимости у пациентов с ранами.

1.1.1 Оформление бланка направления.

В бланке направления указывают основные признаки клинического состояния раны (таблица 1).

Таблица 1 – Признаки, указываемые при направлении на количественное определение микробиоты раневого отделяемого и оценки её этиологической значимости

Клиническая категория раны и срок ее существования							
Острая рана	До 4-х суток	5–10 суток	11–21 суток	Хроническая рана	4–6 недель	7–8 недель	Более 2 месяцев
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Клиническо-anamnestические признаки, описывающие воспалительный статус раны (не менее 3-х)							
Стагнация размеров раны	Экссудация из раны и мацерация краев	Раневой детрит, струп	Ярко-красные или багровые легко травмируемые грануляции*	Неприятный запах из раны			
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			

Увеличение размеров раны	Повышение местной температуры	Углубление раны до кости	Новые очаги деструкции	Увеличение экссудации из раны
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Боль**	Гиперемия кожи	Отек и уплотнение мягких тканей	Увеличение отека мягких и гиперемия окружающих тканей в динамике	Усиление неприятного запаха из раны, появление специфического сладковатого запаха из раны
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

* – возникновение контактного кровотечения при выполнении манипуляций с раной; ** – более специфичен для описания острых ран.

1.1.2 Взятие раневого отделяемого и доставка в лабораторию.

Раневое отделяемое получают с использованием двух тампонов, после предварительной обработки раны, удаления детрита. Один тампон увлажняют стерильным физиологическим раствором, он предназначен для микроскопического исследования, другой – для посева. При подозрении на анаэробную инфекцию используют третий тампон.

При взятии материала используют две основные технологии. Из относительно больших по размеру ран (более 5 см²) мазок из раны получают путем зигзагообразного прокатывания стерильного тампона по поверхности раны, избегая ее краев. Для небольших (менее 5 см²) ран тампон прокатывают от центра к периферии по всей поверхности раны или по площади не менее 1 см². Тампон, предназначенный для посева, помещают в транспортную среду типа Amies. Увлажненный тампон, предназначенный для микроскопии, помещают в пробирку и плотно закрывают пробкой. Третий тампон для культивирования анаэробов помещают в транспортную среду типа Cary-Blair. Биологический материал доставляют в лабораторию в течение не более 2 часов.

1.2 Преаналитический этап количественного определения микробиоты раневого отделяемого и оценки её этиологической значимости у пациентов с обширными глубокими ожогами.

1.2.1 Оформление бланка направления.

В бланке направления указывают срок пребывания пациента в отделении реанимации и наличие клинических признаков воспаления (таблица 2).

Таблица 2 – Признаки, указываемые при направлении на количественное определение микробиоты раневого отделяемого и оценки её этиологической значимости у пациентов с обширными глубокими ожогами

Срок пребывания пациента в отделении реанимации				
1–3 сутки	4–10 сутки	11–28 суток и более		
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Клинические данные, описывающие воспалительный статус раны				
Отек и гиперемия окружающих тканей	Очаговое или распространенное изменение окраски раны	Углубление некроза	Раннее отторжение струпа	Кровоточивость или обесцвеченность грануляций
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Геморрагии в подструпной ткани	Размягчение высушенного ожогового струпа	Микроабсцессы в струпе	Гнойные затеки под струпом	Зоны вторичного некроза
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Принимая во внимание значительную площадь повреждения кожных покровов у пациентов с ожогами, следует учитывать стадийность изменения клинического статуса ожоговых ран на различных участках тела пациента, возникающих вследствие «вынужденной» этапности хирургического лечения. Поэтому до этапа некрэктомии мазок из ран получают из подструпного пространства, либо на границе ожоговой раны, покрытой струпом, и окружающей ее кожи. После выполнения некрэктомии материал получают с поверхности гранулирующей раны.

Для получения раневого отделяемого используют два тампона: один тампон рассчитан на 4–5 см² площади раны для микроскопического исследования; на такую же площадь раны используют второй тампон для микробиологического посева. Тампоны прокатывают по поверхности раны, имеющей явные клинические признаки воспаления. При подозрении на анаэробную инфекцию используют третий тампон.

Внимание! Для получения точных данных об этиологически значимых патогенах избегают взятия отделяемого из ран в области рта, промежности, волосистой части головы.

Для доставки биологических образцов в лабораторию используют транспортные среды (см. 1.1.2).

Дополнительными видами биологического материала у пациентов с обширными ожогами являются: отделяемое нижних дыхательных путей (эндотрахеальный аспират), моча, кровь, которые получают стандартными методами.

2. Аналитический этап

2.1 Микроскопия и посев раневого отделяемого.

Тампоном, предназначенным для микроскопии, наносят биологический материал на предметное стекло, окрашивают по Граму, микроскопируют. Микроскопия предназначена для предварительной качественной оценки состава микроорганизмов, присутствующих в ране, а также обнаружения анаэробных бактерий. При микроскопии устанавливают наличие плеоморфной смешанной микрофлоры грамположительных и грамотрицательных палочек и кокков, веретенообразных палочек.

Посев выполняют секторным методом. Дно чашки Петри делят на четыре равные сектора, обозначая сектора А, I, II, III. Предварительно тампон с биологическим материалом помещают в 1 мл жидкой

питательной среды (триптиказо-соевый бульон или другой питательный бульон), перемешивают на вихревом смесителе 3-5 секунд. Полученную суспензию высевают 30-40 штрихами с помощью калиброванной бактериологической петли в сектор А чашки Петри. После этого петлю прожигают и производят 4 штриховых посева из сектора А в сектор I и аналогичным образом – из сектора II в сектор III, из III сектора делают дополнительную «дорожку» в центр чашки Петри. Для количественной оценки полученных культур используют кровяной агар. С целью быстрого получения роста чистой культуры материал также высевают на агар Эндо, желточно-солевой агар, агар для выделения энтерококков, агар Сабуро.

После посева на чашки Петри тампон помещают в пробирку со средой обогащения (триптиказо-соевый бульон или другой питательный бульон). Засеянные чашки Петри и пробирку с тампоном помещают в термостат для культивирования при температуре $36\pm 2^{\circ}\text{C}$. Через 18–24 часа посевы достают из термостата. Количественную оценку микроорганизмов производят по результатам роста на плотных средах на чашках Петри. Тампоном, находящимся в среде обогащения, производят дополнительный высев на кровяной агар и культивируют в термостате при температуре $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение 18–24 часов.

В случаях обнаружения анаэробных бактерий по результатам микроскопии, производят посев материала на соответствующие питательные среды, согласно рекомендациям для этой группы микроорганизмов. Чашки с плотными питательными средами помещают в герметичную емкость с газогенетирующим пакетом для создания анаэробных условий в соответствии со стандартными методами.

2.2 Учет результатов посева.

Видовую идентификацию, определение чувствительности полученных изолятов к антибактериальным средствам (АБС) выполняют с помощью стандартных микробиологических тестов.

Внимание! При получении изолятов *Staphylococcus aureus* необходимо учесть полный комплекс идентификационных признаков – гемолитическую активность (ГЕМ), реакцию плазмокоагуляции, лецитиназную активность (ЛВ), реакцию ферментации маннита (М), фибринолитическую активность (ФЛ). Для оценки гипермукоидного фенотипа *Klebsiella pneumoniae* используют стандартный «стринг-тест».

Результат посева представляют в количестве колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 мл раневого отделяемого. Рост до 30 колоний в секторе А принимают как 10^3 КОЕ/мл, от 30 до 100 – 10^4 КОЕ/мл, более 100 в секторе А и/или до 30 колоний в секторе I принимают как 10^5 КОЕ/мл, до 20 колоний в секторе II – 10^6 КОЕ/мл, от 30 до 40 колоний в секторе II – 10^7 КОЕ/мл, от 60 до 80 колоний в секторе II и/или колонии в секторе III – 10^8 КОЕ/мл. Микроорганизмы, выделенные из среды обогащения, обозначают как «качественное определение».

2.3 Определение фенотипических и генотипических маркеров, отражающих патогенный потенциал полученных изолятов.

2.3.1 Фенотипические маркеры.

У изолятов определяют антикомплиментарную (АКА), антилизоцимную (АЛА), антиинтерфероновую (АИА), адгезивную (АА), протеазную (ПР) активность согласно стандартным методам.

При представлении результатов АКА изоляты считают активными при инактивации комплемента в концентрации 50 ЕД/мл (АКА 3), умеренно активными – в концентрации 25 ЕД/мл (АКА 2), низкоактивными – в концентрации 12,5 ЕД/мл (АКА 1), неактивными – (АКА 0). Интерпретацию результатов АЛА проводят следующим образом:

отсутствует (АЛА 0); низкая: 1–2 мкг/мл (АЛА 1); умеренная: 3–5 мкг/мл (АЛА 2); выраженная: более 5 мкг/мл (АЛА 3). АИА исследуемого изолята считают высокой при инактивации интерферона в концентрации более 2 ед. (АИА 3), средней – от 1,1–2 ед. (АИА 2) и низкой – 1 ед. (АИА 1), отсутствует (АИА 0). Микроорганизмы считают неадгезивными, если значения ИАМ не превышали 1,75 (0); низкоадгезивными – при ИАМ в диапазоне от 1,76 до 2,5 (1), среднеадгезивными – от 2,51 до 4,0 (2), высокоадгезивными, если ИАМ $\geq 4,1$ (3).

У изолятов оценивают способность формировать биопленку, согласно процедуре, представленной в инструкции по применению №211-1215 от 30.06.2016 г.

Справочно. Для анализа используют суточную культуру бактерий в планктонной фазе, суспензированную в 5 мл триптиказо-соевого бульона, содержащего 0,25% глюкозы ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл или 0,5 по McFarland). Суспензию бактерий разделяют на две одинаковые части. Суспензию бактерий из первой части инокулируют в лунку стерильного плоскодонного иммунологического планшета в количестве по 100 мкл. Во вторую часть суспензии добавляют 50 мкл 0,1% водного раствора Конго красного и инокулируют во вторую лунку планшета в количестве 100 мкл. Оценку формирования биопленки проводят после 24 часов инкубации планшета в термостате при температуре $36 \pm 2^\circ\text{C}$. После окончания инкубации планктонные клетки из обеих лунок удаляют пипетированием, лунки планшета 3-хкратно промывают 10мМ фосфатным буферным раствором (рН 7,2). В первую лунку для детекции накопления биомассы (БМ) биопленки добавляют 50 мкл 0,1% раствора генцианвиолета и оставляют при комнатной температуре в течение 10 минут для окраски. Через 10 минут несвязавшийся краситель из первой лунки удаляют путем однократной отмывки 10 мМ фосфатным буфером.

Затем в первую лунку добавляют 200 мкл 95% этанола для экстракции красителя, связанного с БМ биопленки. Во вторую лунку вносят 200 мкл 95 % этанола для экстракции красителя Конго красного, связанного с основным веществом (ОВ) биопленки в процессе инкубации. 125 мкл раствора генцианвиолет/этанол из первой лунки и 125 мкл раствора Конго красный/этанол из второй лунки переносят в оптически чистые лунки. Детекцию результатов проводят на микропланшетном спектрофотометре. Результат выражают в единицах оптической плотности (OD), определение которой для элюатов генцианвиолет/этанол и Конго красный/этанол осуществляют при длине волны 540 и 490 нм, соответственно. Определение оптической плотности. Отсутствию способности к образованию ОВ (ОВ 0) или накоплению БМ (БМ 0) соответствуют значения $OD \leq 0,115$ ед. для экстрактов Конго красный/этанол и генцианвиолет/этанол, соответственно. Низкая способность (ОВ 1, БМ 1) определяется пределами OD от 0,115 до 0,230 ед., умеренная (ОВ 2, БМ 2) – 0,230 до 0,460 ед., выраженная (ОВ 3, БМ 3) – $>0,460$ ед.

2.3.2 Детекция молекулярно-генетических маркеров методом ПЦР.

Препараты суммарной клеточной ДНК выделяют из чистой свежей культуры бактерий с использованием соответствующих комплектов реагентов, согласно прилагаемых инструкций. Характеристики праймеров для проведения ПЦР представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Характеристики праймеров для проведения ПЦР

Название	Последовательность	Темп. отжига	Регулируемый процесс
<i>Staphylococcus aureus</i>			
icaAD F	TATTC AATTACAGTCGCAC	55°C	Образование биопленки: синтез межклеточного полисахаридного адгезина, формирование олигомеров
icaAD R	GATTCTCTCCCTCTTGCCA		
icaBC F	GCCTATCCTTATGGCTTGA	55°C	
icaBC R	TGGAATCCGTCCCATCTC		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			
fimH-F	TGTTCAACCACCTGCTGCTG	61°C	Образование адгезивной

fimH-R	CACCACGTCGTTCTTGGCGT		субъединицы фимбрии 1 типа
mrkD_F	CCACCAACTATTCCCTCGAA	61°C	Образование адгезина фимбрии 3 типа
mrkD_R	ATGGAACCCACATCGACATT		
rmpA_F	ACTGGGCTACCTCTGCTTCA	56°C	Регуляция гипермукоидного фенотипа
rmpA_R	CTTGCAATGAGCCATCTTCA		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
algD_F	CTACATCGAGACCGTCTGCC	65°C	Синтез альгината биопленки
algD_R	GCATCAACGAACCGAGCATC		
exoU_F	GCTAAGGCTTGGCGGAATA	61°C	Контактный экзотоксин, вызывающий быстрый лизис клеток
exoU_R	AGATCACACCCAGCGGTAAC		
exoS_F	ATGTCAGCGGGATATCGAAC		
exoS_R	CAGGCGTACATCCTGTTCCT		
pelF_F	GAGGTCAGCTACATCCGTCG	65°C	Синтез полисахарида с высоким содержанием глюкозы
pelF_R	TCATGCAATCTCCGTGGCTT		
psID_F	TGTACACCGTGCTCAACGAC	65°C	Синтез полисахарида с высоким содержанием маннозы
psID_R	CTTCCGGCCCGATCTTCATC		
<i>Acinetobacter baumannii</i>			
csuE_F	CATCTTCTATTTTCGGTCCC	60°C	Регуляция механизма сборки пилей, образование плотной биопленки
csuE_R	CGGTCTGAGCATTGGTAA		
OmpA_F	GTAAAGGCGACGTAGACG	58°C	Синтез фермента инвазии, обладающего ДНК-азной активностью
OmpA_R	CCAGTGTTATCTGTGTGACC		
abal_F	CCGCCTTCCTCTAGCAGTCA	58°C	Синтез сигнальных молекул quorum sensing QS
abal_R	AAAACCCGCAGCACGTAATAA		
pgaA_F	GCCGACGGTCGCGATAC	60°C	Синтез внеклеточного полисахарида – основного компонента биопленки
pgaA_R	ATGCACATCACCAAAACGGTACT		
<i>Enterococcus faecalis</i>			
gelE-F	TATGACAATGCTTTTTGGGAT	56°C	Синтез желатиназы – основного фактора вирулентности
gelE-R	AGATGCACCCGAAATAATATA		
fsrA-F	CGTTCCGTCTCTCATAGTTA	56°C	Регуляторная система синтеза желатиназы
fsrA-R	GCAGGATTTGAGGTTGCTAA		
fsrB-F	TAATCTAGGCTTAGTCCCAC	56°C	
fsrB-R	CTAAATGGCTCTGTCTGTCTAG		
fsrC-F	GTGTTTTTGATTTTCGCCAGAGA	56°C	
fsrC-R	TATAACAATCCCCAACCGTG		
agg-F	CCAGTAATCAGTCCAGAAACAACC	50°C	Синтез агрегационной субстанции
agg-R	TAGCTTTTTTCATTCTTGTGTTTGTT		
Esp-F	AATTGATTCTTTAGCATCTGG	56°C	Синтез белков, участвующих в формировании биопленки
Esp-R	AGATTCATCTTTGATTCTTGG		
ace-F	GAATGACCGAGAACGATGGC	53°C	Синтез адгезина, обеспечивающего прикрепление к коллагену
ace-R	CTTGATGTTGGCCTGCTTCC		
asa1-F	GCACGCTATTACGAACSTATGA	56°C	Синтез адгезина
asa1-R	TAAGAAAGAACATCACCACGA		

<i>Proteus mirabilis</i>			
rsmA-F	TAGCGAGTGTTGACGAGTGG	50°C	Регуляция экспрессии факторов вирулентности
rsmA-R	AGCGAGGTGAAGAACGAGAA		
ptaA-F	CAATTTTCAGCACCTAATAACCC	50°C	Синтез токсического агглютинина
ptaA-R	TGCTTAATCAAGGAGCCGAT		
zapA-F	TATCGCAGAACTGATCACTCG	56°C	Образование металлопротеиназы
zapA-R	ATCTGGCTCTTTGTTAGCTTG		
hpmA-F	ATAGTCACGCCAAATAACGAA	56°C	Синтез гемолизина
hpmA-R	TATTTCCACGAGTAGAACCCAG		
rsbA-F	TTGAAGGACGCGATCAGACC	56°C	Синтез сигнальных молекул quorum sensing QS
rsbA-R	ACTCTGCTGTCCTGTGGGTA		

Детекцию продуктов амплификации осуществляют электрофоретическим методом. Визуализацию результатов выполняют с использованием прибора для гель-документирования.

3. Постаналитический этап. Интерпретация результатов и выдача лабораторного заключения

3.1 Алгоритм интерпретации результатов посева отделяемого ран (рисунок 1).

Выделение изолятов микроорганизмов на наиболее ранних сроках существования острых ран (до 4-х суток) при отсутствии клинических признаков воспаления свидетельствует о контаминации. Это не требует проведения системной антибактериальной терапии и позволяет выполнить пластическое закрытие раневого дефекта после предварительного механического дебридмента.

При наличии клинических признаков воспаления этиологически значимыми считают изоляты, обнаруженные в количестве $>10^5$ КОЕ/мл, либо полученные после дополнительного культивирования и изучения свойств. В результате микробиологического исследования указывают данные чувствительности изолятов к АБС.

На более поздних сроках существования острых ран (от 5 суток до 3-х недель), в период пролиферативной фазы и формирования грануляционной ткани, важным является определение момента нарушения процесса заживления и развития хронического воспаления. Выделение

монокультуры в количестве $>10^5$ КОЕ/мл, наличие резистентности изолята к 3-м и более АБС при отсутствии клинических признаков воспаления свидетельствует о колонизации раны патогеном, который нарушает процесс заживления. В случаях выделения смешанных культур, в том числе в количестве $\leq 10^5$ КОЕ/мл и со среды обогащения, в сочетании с резистентностью к 3-м и более АБС, необходимо определение ведущего патогена, нарушающего процесс заживления. Обращают внимание на виды, относящиеся к категории ESKAPE: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, Enterobacterales (наиболее часто встречающийся представитель – *Proteus mirabilis*). Клиническое значение изолята в нарушении процесса заживления определяется присутствием фенотипических и генотипических маркеров патогенности. Для *Staphylococcus aureus* (коагулазопозитивный) важным является возможность отсутствия 1–2 из стандартных идентификационных признаков – ЛВ, ГЕМ, М, ПР и проявление ФЛ активности, что является признаком приобретения персистентных свойств. Для *Klebsiella pneumoniae* учитывают наличие гипермукоидного фенотипа.

Весь перечень генотипических маркеров может детектироваться, также возможны различные варианты сочетаний генетических детерминант патогенности. В таких случаях, особенно на 3-й неделе существования острой раны, обоснованным является пересмотр тактики ее ведения и использование методов, применяемых для лечения хронических ран: сеансов механического и физического дебридмента на этапе предоперационной подготовки раны к пластическому закрытию. При наличии признаков воспаления выделенные патогены признаются этиологически значимыми для критически колонизированных и инфицированных ран. Аналогичные принципы интерпретации

применяются для хронических ран, срок существования которых составляет более 3-х недель.

Предоперационная санация критически колонизированных ран должна включать несколько сеансов механического и физического дебридмента с целью эффективного разрушения матрикса бактериальной биопленки и препятствия ее реформирования. Системная антибактериальная терапия для критически колонизированных ран не показана. Ввиду риска возникновения системной инфекции, наличие инфицированной раны является показанием к проведению этиотропной системной антибактериальной терапии в комплексе с местной санацией раны путем использования сеансов механического и физического дебридмента.

3.2 Алгоритм интерпретации результатов микробиологического исследования обширных ожоговых ран (рисунок 2).

Обнаружение микроорганизмов на наиболее ранних сроках пребывания пациентов в отделении реанимации (1–3 сутки) при отсутствии клинических признаков воспаления в ожоговой ране указывает на контаминацию. Наиболее часто выделяются представители грамположительных бактерий – *Staphylococcus spp.* (*Staphylococcus aureus*, коагулазонегативные стафилококки), *Enterococcus faecalis*. Выделение микроорганизмов, особенно грамотрицательных – неферментирующих бактерий *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*, Enterobacterales (*Klebsiella pneumoniae* и др.), в количестве $>10^5$ КОЕ/мл, обладающих признаками резистентности, на фоне начальных клинических признаков воспалительного процесса свидетельствует о наличии неинвазивной поверхностной инфекции. Изоляты из категории ESKAPE, выделенные после использования среды обогащения, либо в количестве $\leq 10^5$ КОЕ/мл, подлежат дальнейшему исследованию для выявления

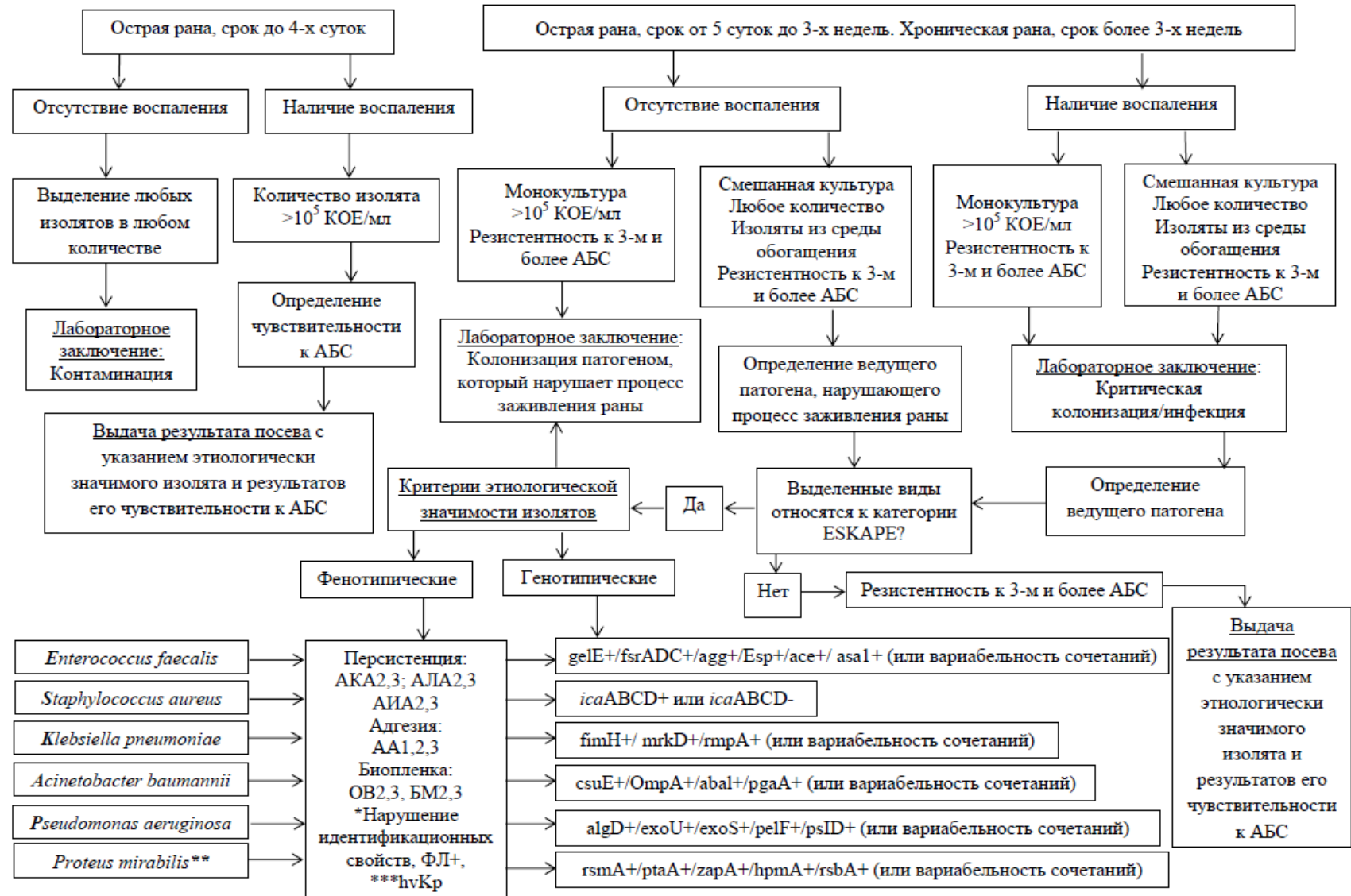
фенотипических и генотипических маркеров патогенности. Детекция в биологическом материале пациента потенциальных патогенов является «маркером тревоги», что особенно важно на раннем этапе течения ожоговой травмы для прогнозирования дальнейшего развития инфекционных осложнений. Потенциальные патогены, обнаруженные в небольшом количестве, со среды обогащения, либо $\leq 10^5$ КОЕ/мл, и их чувствительность к АБС должны быть указаны в бланке результата с рекомендацией по проведению динамического микробиологического исследования. Наряду с установленными критериями системного воспалительного ответа вышеуказанные «маркеры тревоги» могут быть включены в шкалу ранней диагностики сепсиса.

На последующих сроках пребывания пациента в отделении реанимации при наличии системных признаков воспалительного ответа показано получение других видов биологического материала – эндотрахеального аспирата, крови, мочи. Локальные изменения в ране в сочетании с положительным результатом микробиологического посева свидетельствуют о наличии инвазивной инфекции. Микроорганизмы, выделенные при документально подтвержденных признаках инфекции – положительный посев мочи, позитивная гемокультура, инвазивная раневая инфекция, наличие пневмонии, как правило, совпадает по качественным характеристикам.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

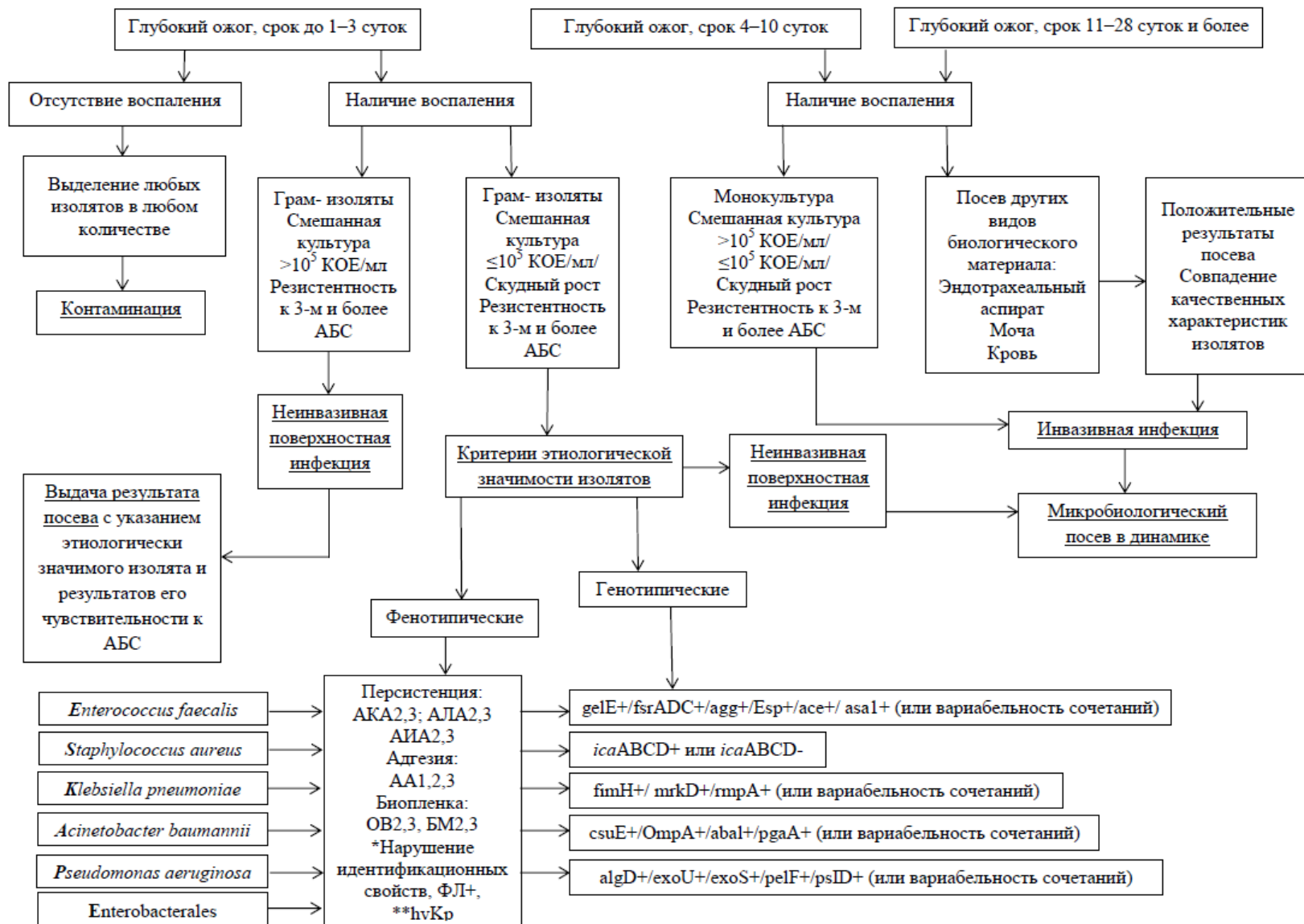
Осложнений нет. Ошибки могут быть связаны с нарушением преаналитического этапа получения биологического материала для микробиологического исследования, полноты клинической оценки состояния раны, заполнения бланка направления.

Рисунок 1 – Алгоритм интерпретации результатов посева отделяемого ран



* - нарушение идентификационных свойств *Staphylococcus aureus* (см.п. 3.1); ** - анализируются свойства *Proteus mirabilis* как наиболее часто встречающегося представителя Enterobacterales; ***hvKp – гипервирулентный тип *Klebsiella pneumoniae* (гипермукоидный фенотип/fimH+/mrkD+/rmpA+)

Рисунок 1 – Алгоритм интерпретации результатов посева отделяемого обширных глубоких ожогов



* - нарушение идентификационных свойств *Staphylococcus aureus* (см.п. 3.1); **hvKp – гипервирулентный тип *Klebsiella pneumoniae* (гипермукоидный фенотип/fimH+/mkD+/rmpA+)

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель организации

_____ (подпись)

_____ (инициалы, фамилия)

« _____ » _____ 20__ г.

АКТ
о практическом использовании результатов исследования

В _____
(сфера, в которой нашли практическое применение результаты исследования*)

Комиссия в составе _____

_____ настоящим подтверждает,
что _____

(название структурного подразделения организации)

*проведено опытно-промышленное испытание (осуществлено внедрение в технологический процесс, в учебный процесс и др.**)*

_____ (указываются конкретные научные результаты, которые нашли применение)
полученных

_____ (фамилия, имя, отчество автора (авторов) исследования)
при выполнении программы (проекта, темы НИР**)

_____ (название программы, проекта, темы НИР**)

для _____
(указываются решаемые практические задачи)

на основании чего _____
(приводятся конкретные результаты практического использования)

Экономический эффект от использования результатов составил _____
(расчет прилагается)***.

Члены комиссии:

_____ (подпись)

_____ (инициалы, фамилия)
