

ПАТОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ ESKAPE, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАН: ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕНО- И ГЕНОТИПИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ



Ю. И. Ярец

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

Введение. Оценка биологических свойств изолятов, выделенных из клинического материала пациентов, повысит информативность микробиологического исследования, оптимизирует интерпретацию результатов посева для обоснования дальнейшей тактики лечения ран.

Цель. Проанализировать фенотипические и генотипические свойства бактерий группы ESKAPE и определить возможность практического использования параметров, характеризующих биофильность изолята, при интерпретации результатов микробиологического посева раневого отделяемого.

Материал и методы. Проанализированы фено- и генотипические маркеры, характеризующие патогенный потенциал изолятов группы ESKAPE: *Enterococcus faecalis* (n=93), *Staphylococcus aureus* (n=177), *Klebsiella pneumoniae* (n=7), *Acinetobacter baumannii* (n=32), *Pseudomonas aeruginosa* (n=45), *Enterobacteriales* (*Proteus mirabilis*, n=26). Микроорганизмы были выделены из раневого отделяемого пациентов с острыми и хроническими ранами, которые поступали в ожоговое отделение ГУЗ «Гомельская городская клиническая больница № 1» за период 2012-2020 гг. для оказания специализированной медицинской помощи. Дефекты покровных тканей были представлены посттравматическими ранами (механические травмы, термические ожоги), постнекротическими ранами (после гнойно-воспалительных заболеваний кожи и подлежащих тканей), трофическими язвами (на культях нижних конечностей после длительного ношения протеза; нейротрофическими – после механической травмы периферических нервов); пролежнями III стадии после длительного сдавления тканей. При описании свойств изолятов учитывали срок существования раны и наличие клинических признаков инфекционного воспаления.

Результаты. Определена взаимосвязь клинического статуса раны (отсутствие признаков воспаления, критическая колонизация, инфекция) с биофильностью изолята, выделенного из раневого отделяемого. Потенциально патогенные *S. aureus*, обладающие колонизационными, инвазивными и цитотоксическими свойствами, обнаруживались в ранах минимальных сроков существования – до четырех суток, однако отсутствие клиники инфекции позволяет говорить о контаминации. Формирование биопленки, персистентные свойства, генетические маркеры патогенности у *S. aureus* и *E. faecalis* в сочетании с патологическими изменениями мелкозернистых грануляций в ране свидетельствуют о колонизации. Воспалительный статус ран (критическая колонизация и инфекция по критериям NERDS&STONEES), из которых выделялись *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, наличие маркеров вирулентности, резистентность к антибиотикам определяют значимость этих изолятов как этиологических агентов инфекционного процесса. *P. mirabilis*, выделенные из критически колонизированных и инфицированных ран, не во всех случаях имели полный комплекс маркеров вирулентности, особенно в составе ассоциаций. *K. pneumoniae* выделялись только из ран, имеющих признаки воспаления, проявляли разные сочетания генетических детерминант вирулентности, вариабельность гиперпродукции капсультных полисахаридов и образования биопленки.

Выводы. Разработан алгоритм интерпретации результатов посева раневого отделяемого с включением фено- и генотипических маркеров, которые рекомендуются для определения ведущего патогена, колонизирующего рану и нарушающего процесс заживления; оценки этиологической значимости представителей смешанных культур, выделенных из критически колонизированных и инфицированных ран, что позволит определить дальнейшую тактику лечения пациентов.

Ключевые слова: ESKAPE-патогены, раневой инфекционный процесс, микробиологический посев, интерпретация результатов, патогенный потенциал, маркеры вирулентности.

Для цитирования: Ярец, Ю. И. Патогенный потенциал бактерий группы ESKAPE, выделенных из ран: характеристика фено- и генотипических маркеров и возможность их практического применения / Ю. И. Ярец // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2022. Т. 20, № 4. С. 400-413. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2022-20-4-400-413>

Введение

Среди клинически значимых бактерий в настоящее время определяют группу видов ESKAPE, к которым относят *Enterococcus faecalis/faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, иные представители порядка *Enterobacteriales*, что связано с их способностью вызывать нозо-

комиальные инфекции и приобретать резистентность к антибактериальным средствам (АБС) [1].

Определение клинической значимости бактерий при диагностике инфекционного процесса или нарушения процесса заживления имеет особое значение у пациентов с ранами. Как правило, пациенты до момента попадания в специализированное отделение имеют периоды амбулатор-

ного и стационарного лечения в медицинских учреждениях разного уровня. При лечении в условиях стационара пациенты с дефектами покровных тканей часто пребывают в общих палатах отделений абдоминальной и гнойной хирургии, что приводит к колонизации ран разными штаммами бактерий, в том числе относящимися к внутрибольничной флоре. Существенный вклад вносят бактерии группы ESKAPE, которые, обладая адаптационными возможностями и мобильностью биологических свойств, наряду с формированием резистентности к АБС могут изменять патогенный потенциал. Функциональная лабильность бактерий проявляется при действии АБС и разных местных методов лечения, при нахождении в составе биопленки, хроническом течении патологического процесса, что особо актуально для условий стационара [2, 3]. В свою очередь наличие взаимосвязи фенотипической пластичности изолятов, выделенных из клинического материала пациентов, с характером течения заболевания может быть дополнительным критерием оценки этиологической значимости.

Фенотипические свойства бактерий зависят от характеристик генов, контролирующих патогенность. Так, регуляция свойств *P. aeruginosa* происходит в рамках quorum sensing (QS), основанной на действии аутоиндукторов и включающей системы LasI/LasR и RhlI/RhlR. Аутоиндукторы регулируют синтез факторов вирулентности и экспрессию ряда генов, важных для инвазии и выживания *P. aeruginosa*. QS играет роль в формировании биопленки, в которой коммуникация бактерий с помощью сигнальных молекул происходит более эффективно. Аутоиндукторы QS участвуют и в межвидовой коммуникации, влияя на рост другого вида и выраженность его патогенных свойств [4].

Фенотипическое проявление формирования биопленки имеет два основных атрибута – клеточная биомасса (БМ) и внеклеточный матрикс (основное вещество, ОВ), последний является важнейшим фактором патогенеза инфекционного процесса. Структура матрикса у *P. aeruginosa* формируется за счет альгината (ген *alg*) и полисахаридов (гены *psl* и *pel*). Важные факторы патогенности *P. aeruginosa* – экзотоксины: ExoS вызывает перестройку актина в цитоскелете клетки хозяина, приводящую ее к гибели; ExoU – аналог внутриклеточной фосфолипазы, вызывающий лизис клеток [5].

K. pneumoniae обладает немногочисленными, но эффективными факторами вирулентности, которые обуславливают развитие инфекционного процесса [6]. Фимбрии I типа, обеспечивающие адгезию, экспрессируют до 90% изолятов *K. pneumoniae*. Этот тип фимбрий состоит из субъединиц, кодируемых генами *fimA* (большая субъединица), *fimH* (адгезивная субъединица), *fimF* и *fimG* (минорные структурные субъединицы) и др. (*fimC*, *fimD*, *fimI*, *fimK*). Фимбрии типа 3, участвующие в формировании биопленки, у *K. pneumoniae* кодируются кластером *mrkABCD*. Клиническое значение имеют штаммы *K. pneumoniae*, обладающие гипермукоид-

ным фенотипом. Гиперпродукция капсульных полисахаридов возникает под действием положительных регуляторов экспрессии локуса *cps*, кодирующего синтез капсулы. К таким регуляторам относится ген *grmA*, который входит в состав большой плазмиды *K. pneumoniae*, ассоциированной с вирулентностью [7].

Образование биопленок *S. aureus* связано с поли-N-ацетилглюкозаминном (PNAG) или межклеточным полисахаридным адгезином PIA (polysaccharide intercellular adhesion). PNAG/PIA – основной компонент матрикса, отвечающий также за межклеточную адгезию БМ, определяя вирулентность стафилококков [8]. Синтез PNAG/PIA регулируется *icaADBC* опероном. Синтезируемые компоненты специфически взаимодействуют с субстратами, осуществляя якорную функцию, инициируют дальнейшие процессы образования биопленки. Исследованиями показана вариабельность наличия *ica* генов у стафилококков [9].

Оценка биологических свойств изолятов, выделенных из клинического материала пациентов, повысит информативность микробиологического исследования, оптимизирует интерпретацию результатов посева для обоснования тактики дальнейшей тактики лечения ран.

Цель – проанализировать фенотипические и генотипические свойства бактерий группы ESKAPE и определить возможность практического использования параметров, характеризующих биофильный изолят, при интерпретации результатов микробиологического посева раневого отделяемого.

Материал и методы

Объектом исследования были изоляты, относящиеся к группе ESKAPE: *E. faecalis* (n=93), *S. aureus* (n=177), *K. pneumoniae* (n=7), *A. baumannii* (n=32), *P. aeruginosa* (n=45), *Enterobacteriales*: наиболее часто встречающийся представитель – *Proteus mirabilis*, (n=26), определяли генотипические и фенотипические маркеры патогенности. Микроорганизмы были выделены из раневого отделяемого пациентов с острыми (ОР) и хроническими ранами (ХР), которые поступали в ожоговое отделение ГУЗ «Гомельская городская клиническая больница № 1» за период 2012-2020 гг. для оказания специализированной медицинской помощи. Дефекты покровных тканей тела были представлены посттравматическими ранами (возникшими вследствие механических травм, термических ожогов); постнекротическими ранами (причинами которых стали гнойно-воспалительные заболевания кожи и подлежащих тканей); трофическими язвами (возникшими на культиях нижних конечностей после длительного ношения протеза; нейротрофическими – вследствие механической травмы периферических нервов); пролежнями III стадии, причиной которых было длительное сдавление тканей. Микробиологическое исследование раневого отделяемого выполняли однократно, на момент поступления пациентов, согласно разработанному нами рекомендациям [10].

Изоляты представляли в КОЕ/мл: $\leq 10^5$ КОЕ/мл и $>10^5$ КОЕ/мл. Учитывали также изоляты, выделенные со среды обогащения (триптиказо-соевого бульона). Распределение изолятов в зависимости от сроков существования ран представлено в таблице 1.

В комплекс фенотипических маркеров патогенности включали: антикомплемментарную (АКА), антилизоцимную (АЛА), антиинтерфероновую (АИА), адгезивную (АА) и протеазную активность (ПР), анализ которых проводили со-

гласно стандартным методам. Способность формировать биопленку определяли согласно процедуре, представленной в инструкции по применению № 211-1215 от 30.06.2016 г. Для окраски ОВ биопленки использовали краситель Конго красный, для окраски БМ биопленки – генцианвиолет. Результат выражали в единицах оптической плотности (OD) [11]. Характеристика фенотипических маркеров представлена в таблице 2.

Генотипические маркеры патогенности детектировали методом ПЦР. Препараты суммарной клеточной ДНК выделяют из чистой свежей культуры бактерий с использованием соответствующих комплектов реагентов, согласно прилагаемым инструкциям. Описание праймеров представлено в таблице 3.

В качестве генетических маркеров патогенности для *S. aureus* были выбраны только гены *isa* оперона по причине наличия достаточного количества фенотипических рутинных тестов для изучения патогенных свойств данного микроорганизма: гемолитической (ГЕМ), протеазной (ПР), лецитиназной (ЛВ), фибринолитической (ФЛ)

Таблица 1. – Количественное распределение изолятов, выделенных в разных сроках существования ран

Table 1. – Quantitative distribution of isolates at different periods of wound existence

Вид	Срок существования раны						
	До 4 суток	5-10 суток	11-21 сутки	22-28 суток	5-6 недель	7-8 недель	Более 2 месяцев
	Количество выделенных изолятов						
<i>S. aureus</i>	42	13	17	20	20	14	51
<i>E. faecalis</i>	22	7	8	11	10	8	27
<i>K. pneumoniae</i>	0	0	4	2	0	1	0
<i>A. baumannii</i>	0	1	8	7	7	1	8
<i>P. aeruginosa</i>	0	1	10	9	4	4	17
<i>P. mirabilis</i>	0	1	2	5	2	4	12

Таблица 2. – Фенотипические маркеры патогенности, определяемые у бактерий и интерпретация результатов

Table 2. – Phenotypic markers of pathogenicity determined in bacteria and interpretation of the results

Маркер	Интерпретация результата	Обозначение
АКА [12]	Отсутствие АКА: нет инактивации комплемента	АКА 0
	Низкая АКА: инактивация 12,5 ЕД/мл комплемента	АКА 1
	Умеренная АКА: инактивация 25 ЕД/мл комплемента	АКА 2
	Высокая АКА: инактивация 50 ЕД/мл комплемента	АКА 3
АЛА [13]	Отсутствие АЛА: рост индикаторного штамма отсутствует	АЛА 0
	Низкая АЛА: рост при 1-2 мкг/мл лизоцима в среде	АЛА 1
	Умеренная АЛА: рост при 3-5 мкг/мл лизоцима в среде	АЛА 2
	Выраженная АЛА: рост при >5 мкг/мл лизоцима в среде	АЛА 3
АИА [14]	Отсутствие АИА: инактивация интерферона отсутствует	АИА 0
	Низкая АИА: инактивация интерферона в концентрации 1 ед.	АИА 1
	Средняя АИА: инактивация интерферона в концентрации 2 ед.	АИА 2
	Высокая АИА: инактивация интерферона в концентрации >2 ед.	АИА 3
АА [15]	Отсутствует АА: индекс адгезивности микроорганизмов (ИАМ) $\leq 1,75$	АА 0
	Низкая АА: ИАМ в диапазоне от 1,76 до 2,5	АА 1
	Средняя АА: ИАМ от 2,51 до 4,0	АА 2
	Высокая АА: ИАМ $\geq 4,1$	АА 3
ОВ биопленки [11]	Отсутствует способность: OD элюта Конго красный/этанол $\leq 0,115$ ед.	ОВ 0
	Низкая способность: OD от 0,116 до 0,230 ед.	ОВ 1
	Умеренная способность: OD от 0,231 до 0,460 ед.	ОВ 2
	Выраженная способность: OD $>0,460$ ед.	ОВ 3
БМ биопленки [11]	Отсутствует способность: OD элюта генцианвиолет/этанол $\leq 0,115$ ед.	БМ 0
	Низкая способность: OD от 0,116 до 0,230 ед.	БМ 1
	Умеренная способность: OD от 0,231 до 0,460 ед.	БМ 2
	Выраженная способность: OD $>0,460$ ед.	БМ 3

Таблица 3. – Характеристики праймеров для проведения ПЦР
Table 3. – Characteristics of primers for PCR

Название	Последовательность	Температура отжига	Регулируемый процесс	
<i>Staphylococcus aureus</i> [16, 17]				
icaAD F	TATTCAATTACAGTCGCAC	55°C	Образование основного вещества биопленки: синтез межклеточного полисахаридного адгезина, формирование олигомеров	
icaAD R	GATTCTCTCCCTCTCTGCCA			
icaBC F	GCCTATCCTTATGGCTTGA	55°C		
icaBC R	TGGAATCCGTCATCTC			
<i>Enterococcus faecalis</i> [18, 19]				
gelE-F	TATGACAATGCTTTTTGGGAT	56°C	Синтез желатиназы – основного фактора вирулентности	
gelE-R	AGATGCACCCGAAATAATATA			
fsrA-F	CGTCCGTCTCTCATAGTTA	56°C	Регуляторная система синтеза желатиназы	
fsrA-R	GCAGGATTTGAGGTTGCTAA			
fsrB-F	TAATCTAGGCTTAGTCCAC	56°C		
fsrB-R	CTAAATGGCTCTGTCTAG			
fsrC-F	GTGTTTTGATTTCCGAGAGA	56°C		
fsrC-R	TATAACAATCCCAACCGTG			
agg-F	CCAGTAATCAGTCCAGAAACAACC	50°C		Синтез агрегационной субстанции
agg-R	TAGCTTTTTTCATTCTGTGTTTGT			
Esp-F	AATTGATTCTTTAGCATCTGG	56°C	Синтез белков, участвующих в формировании биопленки	
Esp-R	AGATTATCTTTGATTCTTGG			
ace-F	GAATGACCGAGAACGATGGC	53°C	Синтез адгезина, обеспечивающего прикрепление к коллагену	
ace-R	CTTGATGTGGCTGCTCC			
asa1-F	GCACGCTATTACGAACTATGA	56°C	Синтез адгезина	
asa1-R	TAAGAAAGAACATCACCACGA			
bop-F	GATCGTCTTCGCCATAGTAGG	56°C	Синтез поверхностных белков, участвующих в формировании биопленки	
bop-R	ATACACAACAGCCCTTGGCT			
ebpA-F	CCATTTGCAGAAGCAAGAATG	56°C	Синтез адгезинов	
ebpA-R	GAGTGAAAGTTCCTCTCTAG			
ebpB-F	CATTAGCAGAGGCATCGCAA			
ebpB-R	CAAGTGGTGGTAAGTCATAGG			
ebpC-F	CTGCTACGAATATGGTGGTG			
ebpC-R	GGTGTGTTGATTGTTGCTTC			
pil-F	GAAGAAACCAAGCACCTAC	56°C	Образование пилей	
pil-R	CTACCTAAGAAAAGAAACGGC			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> [20, 21]				
fimH-F	TGTTCCACCACCTGCTGCTG	61°C	Образование адгезивной субъединицы фимбрии 1 типа	
fimH-R	CACCACGTCGTTCTTGGCGT			
mrkD_F	CCACCAACTATTCCTCGAA	61°C	Образование адгезина фимбрии 3 типа	
mrkD_R	ATGGAACCCACATCGACATT			
rmpA_F	ACTGGGCTACCTCTGCTTCA	56°C	Регуляция гипермукоидного фенотипа	
rmpA_R	CTTGCATGAGCCATCTTTCA			
K2A_F	CAACCATGGTGGTCGATTAG	56°C	Ген, специфичный для K1 серотипа	
K2A_R	TGGTAGCCATATCCCTTTGG			
magA_F	TCTGTCATGGCTTAGACCGAT	56°C	Ген, специфичный для K2 серотипа	
magA_R	GCAATCGAAGTGAAGAGTGC			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> [22, 23, 24]				
algD_F	CTACATCGAGACCGTCTGCC	65°C	Синтез альгината биопленки	
algD_R	GCATCAACGAAACCGAGCATC			

Продолжение таблицы 3

exoU F	GCTAAGGCTTGGCGGAATA	61°C	Контактный экзотоксин, вызывающий быстрый лизис клеток	
exoU R	AGATCACACCCAGCGGTAAC			
exoS F	ATGTCAGCGGGATATCGAAC			
exoS R	CAGGCGTACATCCTGTTCCT			
pelF F	GAGGTCAGTACATCCGTCG	65°C	Синтез полисахарида с высоким содержанием глюкозы	
pelF R	TCATGCAATCTCCGTGGCTT			
psID F	TGTACACCGTGCTCAACGAC	65°C	Синтез полисахарида с высоким содержанием маннозы	
psID R	CTCCGGCCCGATCTTCATC			
IasI F	GTGTTCAAGGAGCGCAAAGG	61°C	Регуляция свойств (синтез факторов вирулентности, коммуникация бактерий) в рамках системы quorum sensing (QS)	
IasI R	AACGGCTGAGTTCCAGATG			
IasR F	TCGAACATCCGGTCAGCAAA	61°C		
IasR R	GTTCACATTGGCTCCGAGC			
rhII F	CCGTTGCGAACGAAATAGCG	61°C		
rhII R	CAGTTCGACCATCCGCAAC			
rhIR F	TCGCTCCAGACCACCATTC	61°C		
rhIR R	GACGGAGGCTTTTGCTGTG			
<i>Acinetobacter baumannii</i> [25, 26]				
csuE_F	CATCTTCTATTCGGTCCC	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	CCAGTGTATCTGTGTGACC			
abal_F	CCGCCTCTCTAGCAGTCA	58°C	Синтез сигнальных молекул quorum sensing QS	
abal_R	AAAACCCGACGACGTAATAA			
pgaA_F	GCCGACGGTCGCGATAC	60°C	Синтез внеклеточного полисахарида – основного компонента биопленки	
pgaA_R	ATGCACATCACAAAACGGTACT			
bap_F	ATGCCTGAGATACAAATTAT	58°C	Синтез белков, ассоциированных с биопленкой	
bap_R	GTCAATCGTAAAGGTAACG			
<i>Proteus mirabilis</i> [27]				
rsmA-F	TAGCGAGTGTGACGAGTGG	50°C	Регуляция экспрессии факторов вирулентности	
rsmA-R	AGCGAGGTGAAGAACGAGAA			
mrpA-F	ATGAAATTAATAAATTAGC	50°C	Формирование маннозо-резистентного типа пилей, отвечает за подвижный («фроящийся») рост	
mrpA-R	CTGATAAGTCAGTCCGAAAAG			
pmfA-F	CTGCGGCTTTAGTATTGGT	56°C	Формирование фимбрий	
pmfA-R	TAACGGCTTGAATTCACCT			
ptaA-F	CAATTTCAGCACCTAATAACCC	50°C	Синтез токсического агглютинина	
ptaA-R	TGCTTAATCAAGGAGCCGAT			
zapA-F	TATCGCAGAAGTATCACTCG	56°C	Образование металлопротеиназы	
zapA-R	ATCTGGCTCTTTGTAGCTTG			
hpmA-F	ATAGTCACGCCAAATAACGAA	56°C	Синтез гемолизина, определяющего инвазивные свойства	
hpmA-R	TATTTCCACGAGTAGAACCAG			
rsbA-F	TTGAAGGACGCGATCAGACC	56°C	Синтез сигнальных молекул quorum sensing QS	
rsbA-R	ACTCTGCTGTCTGTGGTA			

активности, реакции плазмокоагуляции, реакции ферментации маннита (М). Для изолятов *S. aureus* учитывали полный комплекс идентификационных признаков. Для оценки гипермукоидного фенотипа *K. pneumoniae* проводили стандартный «стринг-тест» [6].

Определение чувствительности изолятов к АБС проводилось диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хинтона и с использованием анализаторов VITEK 2 Compact и miniApi (BioMerieux, Франция). При выборе панели

АБС, проведении исследования и интерпретации результатов определения чувствительности руководствовались клиническими рекомендациями и стандартами EUCAST 10.0 [28, 29]. Для интегральной оценки резистентности для каждого изолята рассчитывали коэффициент резистентности (КР) по формуле [30]: $KP=R/N$, где КР – коэффициент резистентности, R – число АБС, к которым исследуемый штамм резистентен, N – общее количество тестируемых АБС для данного штамма.

При описании свойств изолятов учитывали срок существования раны и наличие клинических признаков инфекционного воспаления. При оценке воспалительного статуса ОР принимали во внимание наличие боли, гиперемии кожи, отек мягких тканей, местной гипертермии. Для ХР с использованием мнемосхем «NERDS&STONEES» устанавливали клинические симптомы критической колонизации (наличие на раневом ложе ярко-красных, хрупких, легко травмируемых грануляций; присутствие раневого детрита; экссудация из раны и мацерация ее краев) или инфекции (увеличение количества экссудата, смена его характера на гнойный, гиперемия и отек мягких тканей; увеличение размеров раневого дефекта; появление неприятного запаха из раны) [31]. В связи с потенциальной патогенетической ролью микроорганизмов в нарушении процесса заживления использовали понятие «колонизированная» рана, когда изоляты выделялись из ран, не имеющих явных признаков воспаления.

При статистическом описании результатов встречаемость микробиологических признаков выражали в относительных частотах (%). Частотный анализ в таблицах сопряженности проводили с использованием критерия χ^2 Пирсона. Для слабонасыщенных таблиц (имелись ячейки со значениями ≤ 5), оценку статистической значимости проводили с помощью рандомизированной процедуры Монте-Карло. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Изоляты *S. aureus*, выделенные из ОР сроком до 4 суток и не имеющих клинических признаков воспаления ($n=42$), во всех случаях характеризовались наличием генов *isa* оперона (*isaAD+* и *isaBC+*), однако степень фенотипической способности к синтезу матрикса биопленки была низкой или отсутствовала ($OB\ 0,1=100\%$). В то же время эти *S. aureus* активно накапливали биомассу биопленки ($BM\ 2,3=100\%$), во всех случаях обладали высокой АА ($AA\ 2,3$) и проявляли полный комплекс идентификационных признаков ($ГЕМ+$, $ЛВ+$, $ПР+$, $М+$), что указывало на присутствие у *S. aureus* колонизационных, инвазивных и цитотоксических свойств. Персистентные свойства *S. aureus* не обнаруживали: АКА 0,1, АЛА 0,1, АИА 0,1. На наиболее ранних сроках существования ран *S. aureus* в 73,8% случаев ($n=31$) обладали чувствительностью к АБС ($KP=0$), в 26,2% случаев ($n=31$) были резистентны к 1-2 АБС (цефокситин, 30 мкг; цефокситин+эритромицин, цефокситин+гентамицин, 30 мкг; KP от 0,1 до 0,18). В 69% случаев ($n=29$) *S. aureus* обнаруживались в монокультурах, в 31% ($n=13$) – в составе ассоциаций, преимущественно с первичного посева в количестве $>10^5$ КОЕ/мл – 47,6%, $n=20$ и $\leq 10^5$ КОЕ/мл – 35,7%, $n=15$. В 16,7% случаев ($n=7$) *S. aureus* выделялись со среды обогащения. Перечисленные характеристики описывают потенциально патогенных *S. aureus*, однако отсутствие клинических признаков инфекции позволяет говорить о контаминации ран

S. aureus только в случаях минимальных сроков их существования – до 4 суток. Это дополнительно доказывает необходимость пластического закрытия раны в максимально ранние сроки, пока *S. aureus* не начнет активно противостоять действию факторов иммунной системы макроорганизма и развивать инфекционный процесс.

Реализация патогенного потенциала *S. aureus* в монокультуре (70%, $n=14$) и в составе ассоциаций (30%, $n=6$) проявлялась на более поздних сроках ОР – в период формирования грануляционной ткани (от 5 до 21 суток), что подтверждалось клинической картиной воспалительного статуса. Удлинение периода обращения пациента с ОР за специализированной медицинской помощью сопровождалось появлением у *S. aureus* дополнительных персистентных свойств. Это выражалось в умеренной и выраженной способности формировать матрикс биопленки ($OB\ 2,3=80\%$, $n=16$), наличии защитных протеаз: АКА 2,3 (100%, $n=20$), АЛА 2,3, АИА 2,3 (45%, $n=9$), ФЛ+ (10%, $n=2$). Такие *S. aureus* при первичной идентификации не проявляли 1-2 признаков – ЛВ- (10%, $n=2$), М- (10%, $n=2$), ПР- (20%, $n=4$), в 65% случаев обладали низкими значениями АА ($AA\ 0,1=65\%$, $n=13$). Обнаруживались *S. aureus* с KP от 0,27 до 0,36 (цефокситин+эритромицин+гентамицин; цефокситин+гентамицин+левофлоксацин+норфлоксацин, 10%, $n=2$).

Персистентные свойства были наиболее характерны для *S. aureus*, колонизирующих ХР, включая раны сроком 22-28 суток, не имеющих признаков инфекции. Чаще такие *S. aureus* обнаруживались в монокультуре (63,5%, $n=33$; $\chi^2=14,59$, $p<0,001$), активно формировали биопленку ($OB\ 2,3=90,4\%$, $n=47$, $\chi^2=6,89$, $p=0,027$), секретировали комплекс факторов, инактивирующих защитные силы макроорганизма: АКА 2,3=94,2%, $n=49$ ($\chi^2=12,58$, $p=0,002$); АЛА 2,3=86,5%, $n=45$ ($\chi^2=32,44$, $p<0,001$); АИА 2,3=94,2%, $n=49$ ($\chi^2=20,48$, $p<0,001$), проявляли нарушения идентификационных характеристик ($ГЕМ+/-$, $ЛВ+/-$, $М+/-$, $ПР+/-$). У 23,1% ($n=12$) изолятов *S. aureus*, обладающих персистентными свойствами, не детектировались гены *isa* оперона (*isaAD-* и *isaBC-*) ($\chi^2=7,10$, $p=0,03$). Колонизационный потенциал *S. aureus* подтверждался высокой АА ($AA\ 2,3=90,4\%$, $n=47$) в сочетании с выраженной способностью к накоплению БМ биопленки ($BM\ 2,3=88,5\%$, $n=46$). Выявленные особенности позволяют предполагать негативное влияние изолятов *S. aureus*, имеющих персистентный биофиль, на процесс заживления раны. Несмотря на отсутствие явного воспалительного статуса, мелкозернистые грануляции, выполняющие раневое ложе, характеризовались наличием патологических признаков – атрофии, рубцовых изменений, что отражало нарушение II пролиферативной фазы раневого процесса.

Персистентные свойства *S. aureus*, выделенных из критически колонизированных и инфицированных ХР, проявлялись в меньшей степени, чем в колонизированных ранах. Учитывая, что из этих ран *S. aureus* выделялись преимущественно в составе ассоциаций (73%, $n=27$ в критически ко-

лонизированных ранах и 75%, $n=12$ в инфицированных ранах, $\chi^2=14,59$, $p<0,001$), необходимо рассматривать в качестве этиологии инфекции ХР и других представителей смешанных культур. В ХР, проявляющих клинические признаки инфекции, изоляты *S. aureus* характеризовались более высоким уровнем резистентности к АБС (КР 0,27-0,36, КР $>0,36$, $\chi^2=14,59$, $p<0,001$).

Согласно предварительным данным по структуре микробиоты раневого отделяемого, *E. faecalis* был вторым по частоте встречаемости [10, 32]. В монокультуре *E. faecalis* обнаруживались только в ОР и ХР, не имеющих клинических признаков воспаления. В случаях критически колонизированных и инфицированных ран *E. faecalis* выделялся только в составе ассоциаций. Монокультуры *E. faecalis* ($n=7$), выделенные из ОР сроком до 4 суток, характеризовались преимущественно отсутствием или низкой способностью формировать биопленку (ОВ 0,1), низкой АА, отсутствием персистентных свойств (АКА 0, АЛА 1, АИА 0). У всех изолятов не определялся ряд генетических детерминант вирулентности: *gelE*, *asa1*, *agg*, регуляторная система *fsr* (*fsrA*, *fsrB*, *fsrC*). У 2 изолятов детектировались гены *esp*, у 1 – ген *ase*. Изоляты также характеризовались чувствительностью к АБС (КР=0,0). На этих же сроках существования ран изоляты *E. faecalis* ($n=15$) в составе ассоциаций с *S. aureus* или коагулазоотрицательными стафилококками (CoNS) проявляли признаки формирования биопленки (ОВ 1=66,7%, $n=10$), продукции протеаз (АКА 2, АЛА 1,2, АИА 1); 33,3% ($n=5$) *E. faecalis* были *gelE*+; 40% ($n=6$) – *asa1*+; 6,7% ($n=1$) – *agg*+, 33,3% ($n=5$) – *esp*+, 66,7% ($n=10$) – *ase*+, 33,3% ($n=5$) – *fsrA*+. В 53,3% случаев ($n=8$) изоляты были чувствительными (КР=0,0), в 46,7% случаев ($n=7$) – характеризовались резистентностью к 1 АБС (ампициллину, эритромицину или гентамицину, КР=0,11).

На более поздних сроках существования острых ран (от 5 до 21 суток) *E. faecalis*, колонизирующие рану ($n=9$), имели следующий биофиль: ОВ 1,2; БМ 2,3; АА 2,3; АКА 1,2,3; АЛА 1,2,3; АИА 1,2,3; *gelE*+(66,7%)/*gelE*-(33,3%); *asa1*+(77,8%)/*asa1*-(22,2%); *agg*+(33,3%)/*agg*-(66,7%); *esp*+(66,7%)/*esp*-(33,3%); *ase*+(33,3%)/*ase*-(66,7%); *fsrA*+(66,7%)/*fsrA*-(33,3%). При наличии признаков инфекции *E. faecalis* чаще характеризовались выраженной биопленкой (ОВ 3) ($\chi^2=23,08$, $p=0,006$), во всех случаях ($n=6$) проявляли высокую АА ($\chi^2=38,96$; $p<0,001$); умеренные и выраженные персистентные свойства (АКА 2,3; АЛА 3; АИА 2,3; $\chi^2=64,90$; $\chi^2=30,53$; $\chi^2=64,90$; $\chi^2=62,48$; $p<0,001$). Все *E. faecalis* были *gelE*+/*asa1*+/*agg*+/*esp*+/*fsrA*+. В 50% случаев детектировался ген *ase*. В 60% случаев ($n=9$) изоляты характеризовались полной чувствительностью к АБС (КР=0,0), в 40% – резистентностью к 2 АБС (эритромицин+гентамицин, норфлоксацин+гентамицин, гентамицин+стрептомицин, КР=0,22).

E. faecalis, колонизирующие ХР, по основным характеристикам не отличались от *E. faecalis*, колонизирующих ОР. Степень проявления персистентных свойств, частота встречаемости гено-

типических маркеров у *E. faecalis*, выделенных из критически колонизированных и инфицированных ХР, значимо отличались от изолятов, колонизирующих ОР. *E. faecalis*, выделенные из ХР, характеризовались более высокими показателями резистентности к АБС (КР=0,22: 17,9%, $n=10$; КР=0,33: 28,5%, $n=16$; КР=0,44: 53,6%, $n=30$).

Обнаружение в ОР монокультур *E. faecalis*, не проявляющих явных патогенных свойств (биофиль: ОВ 0,1/АА 0,1/АКА 0/АЛА 1/АИА 0/*gelE*-/*asa1*-/*agg*-/*fsrABC*-), – это признак контаминации. Наличие способности формировать биопленку, персистентные свойства, присутствие молекулярных маркеров патогенности определяет *E. faecalis*, колонизирующих рану и нарушающих процесс заживления. Учитывая, что при наличии в ране признаков инфекционного воспаления *E. faecalis* выделялся только в составе ассоциаций, самостоятельное этиологическое значение данных микроорганизмов сомнительно. Однако можно предполагать, что в составе смешанных культур *E. faecalis* способствует поддержанию воспаления и реализации патогенного потенциала *S. aureus*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*. Необходимо отметить, что гены *bor*, *ebpABC*, *pil* обнаруживались у всех изолятов *E. faecalis*, что может служить их дополнительным идентификационным признаком.

P. aeruginosa редко обнаруживались в ОР, согласно предварительным данным, частота встречаемости этого вида составляла 5,7% [10, 32]. У пациентов с ОР *P. aeruginosa* выделялась только из ран, имеющих признаки воспаления, в 54,5% случаев ($n=6$) – в монокультуре, в 45,5% случаев ($n=5$) – в составе ассоциации с *S. aureus*. 72,7% культур *P. aeruginosa* ($n=8$), включая ассоциации, выделялись из среды обогащения. В ХР *P. aeruginosa* обнаруживалась в 10,8% случаев [10, 32], преимущественно в критически колонизированных и инфицированных ранах, в 67,8% ($n=19$) – в составе ассоциаций с *S. aureus*, CoNS, *E. faecalis*, *P. mirabilis*. Из ХР, имеющих наиболее длительные сроки существования (более 2 месяцев), изоляты *P. aeruginosa* выделялись в монокультуре ($n=6$), после культивирования в среде обогащения. При этом клинические признаки воспаления отсутствовали.

Существенных различий в частоте обнаружения генетических маркеров вирулентности у *P. aeruginosa*, выделенных из ОР и ХР, не установлено. Практически у всех изолятов детектировались гены QS – *LasI/LasR* и *RhlI/RhlR* (от 72,7 до 100%), гены, регулирующие формирование альгината – *alg* (от 90,9 до 100%). Только 3 изолята *P. aeruginosa*, выделенные из ОР, были QS-негативными, у 2 изолятов не обнаруживался ген *alg*. Большинство изолятов обнаруживали дополнительные гены, участвующие в формировании биопленки: *pslD* (от 54,6 до 100%), *pelF* (от 63,6 до 100%). Важные факторы патогенности *P. aeruginosa* – экзотоксины, частота их обнаружения составляла 57,8% (для *ExoU*) и 53,3% (для *ExoS*). При этом *ExoU*+ изоляты чаще вы-

делялись из критически колонизированных и инфицированных ХР ($\chi^2=21,19$; $p<0,001$). В ХР *P. aeruginosa* формировали более выраженную биопленку, тогда как среди *P. aeruginosa*, выделенных из ОР, чаще встречались изоляты, не формирующие биопленку ($\chi^2=37,30$; $p<0,001$). Степень проявления персистентных свойств (АЛА, АКА, АИА) также была выше для изолятов *P. aeruginosa*, выделенных из ХР ($p<0,001$). *P. aeruginosa* преимущественно были резистентными к 3-7 АБС: КР от 0,3 до 0,7 – у 93,2% ($n=42$) изолятов. У 1 изолята *P. aeruginosa* из ОР наблюдалась резистентность к 2 АБС (пиперацillin+цефтазидим), 2 изолята *P. aeruginosa*, выделенных из ХР, были практически полностью резистентны к АБС, за исключением колистина.

Воспалительный статус практически всех ран, из которых выделялись *P. aeruginosa*, высокая частота встречаемости генетических маркеров вирулентности, а также резистентность *P. aeruginosa* как ведущего этиологического агента инфекционного процесса в ране. При этом в результате микробиологического исследования необходимо включать *P. aeruginosa*, выделенные не только с первичного диагностического посева, но и со среды обогащения, особенно в случаях ОР.

Другой представитель неферментирующих грамотрицательных бактерий – *A. baumannii*, частота встречаемости которых составляла 4,7 и 7,4% для ОР и ХР, соответственно [10, 32], также выделялся только при наличии клинических признаков воспаления. Все изоляты *A. baumannii* характеризовались наличием гена *rgA*, который участвует в синтезе и транспорте внеклеточного полисахарида PNAG. Остальные гены проявляли варибельность сочетаний. У большинства изолятов (93,7%, $n=30$) присутствовали гены QS – *abaI* (белок из семейства LuxI), ответственный за синтез сигнальных молекул семейства N-ацил-гомосеринлактонов, и ген *csuE* (90,6%, $n=29$), который кодирует механизм сборки пилей. Благодаря способности продуцировать PNAG, *Acinetobacter* способны образовывать более плотную биопленку при координации процесса с экспрессией генетического комплекса *csu*. Ген, кодирующий фермент инвазии с ДНК-азной активностью – *OmpA*, встречался в 84,3% случаев ($n=27$). Ген *bar*, отвечающий за синтез белков, ассоциированных с биопленкой, обнаруживался у 62,5% изолятов *A. baumannii* ($n=20$). Существенных различий в частоте встречаемости генетических маркеров вирулентности в зависимости от срока существования раны не выявлено. В 59,4% случаев ($n=19$) *A. baumannii* обнаруживались в количестве $>10^5$ КОЕ/мл; 31,3% изолятов ($n=10$) высевались из среды обогащения: в монокультурах, в составе ассоциаций, либо дополняли культуру первичного диагностического посева; наиболее редко, в 9,3% случаев ($n=3$) – в количестве $\leq 10^5$ КОЕ/мл. Степень проявления персистентных свойств, образования биопленки у изолятов *A. baumannii* была одинаково высокой в ХР и менее выражена в ОР. Большинство изолятов *A. baumannii*

(40,6%, $n=13$) ОР и ХР обнаруживали резистентность к 3 АБС (КР=0,5): карбапенемы+ципрофлоксацин, амикацин+тобрамицин+ципрофлоксацин. 4 изолята *A. baumannii* (12,5%) были полностью чувствительны (КР=0), 4 (12,5%) изолята были практически полностью резистентны, за исключением колистина (КР=0,83). В 21,8% случаев ($n=7$) *A. baumannii* обнаруживали резистентность только к 1 АБС (КР=0,17, к цiproфлоксацину или амикацину). Наличие высокого патогенного потенциала, резистентность к АБС, сочетание с клинической картиной инфекционного процесса позволяет также относить *A. baumannii* к категории этиологически значимых бактерий.

P. mirabilis в ХР – наиболее частый представитель порядка Enterobacteriales (7,4%), также в 1,6% случаев обнаруживается в ОР [10, 32]. Из ОР изоляты *P. mirabilis* ($n=3$) выделялись только при наличии признаков воспаления, в монокультуре в количестве $>10^5$ КОЕ/мл при давности ран более 5 суток. На более поздних сроках *P. mirabilis* колонизировали ХР, обнаруживаясь в монокультуре ($n=4$) в ранах давностью более 2 месяцев. В случаях колонизированных и критически колонизированных ХР *P. mirabilis* ($n=18$) определялся только в составе ассоциаций с *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *E. faecalis*, *S. aureus*, CoNS.

P. mirabilis содержит достаточное количество генов вирулентности, ответственных за инфекционный процесс. Геном QS является *rsbA*, который отвечает за экспрессию трансмиттера сигнальной системы. Этот ген регулирует роящийся рост, способствует секреции внеклеточного полисахарида и формирования биопленки. Другой ген, определяющий роящееся «поведение», – *rsmA*. Маннозо-резистентные P-фимбрии у *P. mirabilis* кодируются кластером генов – опероном *mrpACDEFGHJ*, из которых наиболее важным является субъединица *mrpA*, необходимая *P. mirabilis* для колонизации и формирования биопленки. Существуют специфические для *P. mirabilis* фимбрии (ген *pmfA*). Гемолитическую активность кодирует ген *hpmA*, ответственный за процесс инвазии *P. mirabilis*. Одним из факторов вирулентности *P. mirabilis* выступает внеклеточная металлопротеиназа, синтез которой кодируется геном *zapA*. Фактор инвазии – токсин протей (*Proteus toxic agglutinin*, ген *ptaA*), который вызывает лизис клеток в культуре, а также проявляет свойства агглютинина [27].

У *P. mirabilis*, выделенных из ОР и ХР ($n=26$), в 100% случаев детектировались гены *mrpA* и *pmfA*. Изоляты *P. mirabilis*, колонизирующие ХР сроком от 7-8 недель и более ($n=5$), характеризовались следующими сочетаниями генов: *rsmA*-/*mrpA*+/*pmfA*+/*ptaA*-/*zapA*-/*hpmA*-/*rsbA*- ($n=3$); *rsmA*-/*mrpA*+/*pmfA*+/*ptaA*+/*zapA*+/*hpmA*+/*rsbA*+ ($n=2$). Для данных изолятов были характерны низкая или умеренная АА (АА 1,2), умеренные значения АКА, АЛА, АИА, умеренная способность формировать биопленку, а также сниженная способность к роящемуся росту на питательной среде. Указанный биофиль

P. mirabilis может быть критерием колонизации раны и определяет значение изолята в нарушении заживления раны. Изоляты *P. mirabilis* в ОР (n=3) имели полный комплекс генов, высокую АА и способность к накоплению БМ биопленки (АА 3, БМ 3), умеренные и низкие значения АКА, АЛА, АИА, низкую способность к формированию биопленки (ОВ 1), что указывает на наличие патогенного потенциала *P. mirabilis* и определяет его этиологическое значение в развитии инфекционного процесса в ране.

P. mirabilis, выделенные из критически колонизированных и инфицированных ХР, не во всех случаях проявляли полный комплекс генетических маркеров вирулентности, особенно в составе ассоциаций с *P. aeruginosa*, *A. baumannii*. Изоляты *P. mirabilis* имели умеренную и высокую АА, разный уровень персистентных свойств и способности к образованию ОВ биопленки. В некоторых случаях *P. mirabilis* характеризовались нарушением роста. Это позволяет рассматривать *P. mirabilis* в качестве дополнительного этиологического агента инфекции при обнаружении в составе ассоциации с неферментирующими бактериями. Можно также предполагать, что *P. mirabilis* в смешанной культуре способствует реализации патогенного потенциала *S. aureus* либо имеет самостоятельное этиологическое значение в случаях ассоциаций с CoNS или *E. faecalis*.

Частота обнаружения *K. pneumoniae* в ОР и ХР не превышала 2,1% [10, 32]. Тем не менее, необходимость ее учета определяется включением в группу 6 наиболее значимых и опасных госпитальных патогенов, объединенных термином ESKAPE, под буквой «К». *K. pneumoniae* – одна из наиболее частых причин инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [1, 6]. Характеристика изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из ОР и ХР, имеющих признаки воспаления, представлена в таблице 4.

У всех изолятов *K. pneumoniae* присутствовал ген *fimH*, кодирующий адгезивную субъедини-

цу фимбрии 1, у 6 (85,7%) – ген *mrkD* (кодирует адгезин фимбрии 3). Ген регулятор гипермукоидного фенотипа *gmpA* выявлялся в 71,5% (n=5) случаев. Ген *magA* выявлялся у 42,8% (n=3) изолятов, что соответствовало К1 фенотипу, ген К2А – у 14,3% (n=1) изолятов, что определяло К2 фенотип. Отсутствие генов *magA* и К2А у 3 изолятов *K. pneumoniae* (42,8%) указывало на принадлежность к не-К1/К2-фенотипам. Изоляты характеризовались вариабельностью экспрессии гипермукоидного фенотипа, умеренной или выраженной способностью формировать биопленку, обладали выраженной АА, умеренной или выраженной АКА, АЛА, АИА.

Повышенная вирулентность гипермукоидных изолятов доказана на инфекционных моделях. Напротив, изоляты со сниженной продукцией капсульных полисахаридов (например, изоляты, не несущие ген *gmpA*), обладают слабой вирулентностью, что указывает на особое значение капсулы в развитии инфекционного процесса [7]. Наличие инфекционного процесса в ране позволяет предположить, что указанные гено- и фенотипические признаки могут быть дополнительными критериями, отражающими вирулентные свойства клинических изолятов *K. pneumoniae*.

Взаимосвязь клинического состояния раны с биопротифем изолята, выделенного из клинического материала пациента, определяет необходимость включения оценки фено- и генотипических свойств бактерий в протокол микробиологического исследования раневого отделяемого. Для создания возможности практического использования, на основании результатов настоящего исследования и с учетом ранее полученных данных [10, 32], разработан алгоритм интерпретации результатов посева раневого отделяемого. В алгоритме, наряду с качественным и количественным составом микробиоты, чувствительностью к АБС, включены маркеры биопротифа с целью определения ведущего патогена, колонизирующего рану и нарушающего заживление;

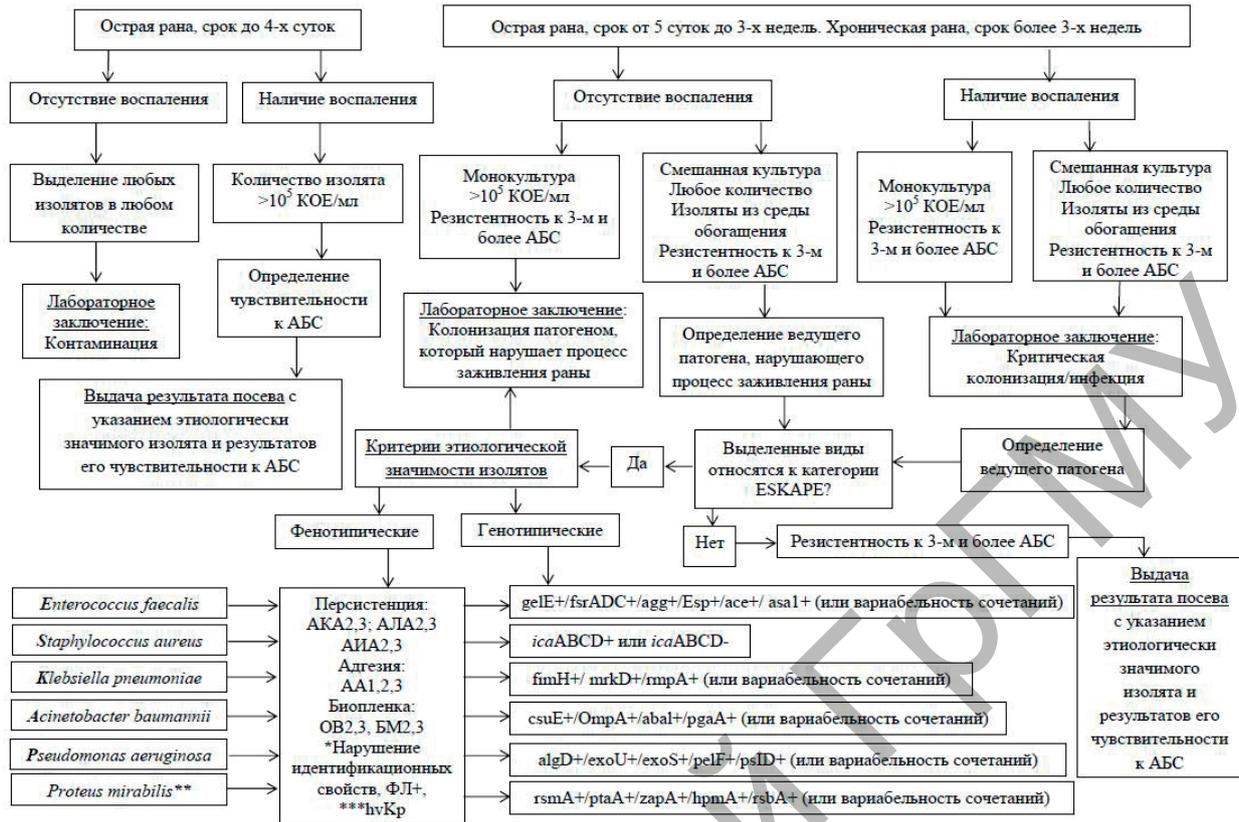
оценки этиологической значимости бактерий смешанных культур, выделенных из критически колонизированных и инфицированных ран, что позволит определить дальнейшую тактику лечения пациентов (рис.).

Выделение изолятов на наиболее ранних сроках существования ОР – до 4 суток при отсутствии клинических признаков воспаления, свидетельствует о контаминации. Это не требует проведения системной антибактериальной терапии и позволяет выполнить пластическое закрытие раневого дефекта после предваритель-

Таблица 4. – Биопротифы изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из раневого отделяемого ОР и ХР

Table 4. – Bioprofiles of *K. pneumoniae* isolated from acute and chronic wound swabs

Признак	Изоляты ОР (n=4)	Изоляты ХР (n=3)
Биопротиф	<i>fimH</i> +/ <i>mkD</i> +/ <i>rmpA</i> +/ <i>magA</i> +/ <i>K2A</i> - (n=2)	<i>fimH</i> +/ <i>mkD</i> -/ <i>rmpA</i> -/ <i>magA</i> -/ <i>K2A</i> -
	<i>fimH</i> +/ <i>mkD</i> +/ <i>rmpA</i> +/ <i>magA</i> -/ <i>K2A</i> +	<i>fimH</i> -/ <i>mkD</i> +/ <i>rmpA</i> -/ <i>magA</i> -/ <i>K2A</i> -
	<i>fimH</i> +/ <i>mkD</i> +/ <i>rmpA</i> +/ <i>magA</i> -/ <i>K2A</i> -	<i>fimH</i> +/ <i>mkD</i> +/ <i>rmpA</i> +/ <i>magA</i> +/ <i>K2A</i> -
Биопленка	ОВ 2/БМ 3 (n=1)	ОВ 3/БМ 3(n=3)
	ОВ 3/БМ 3(n=3)	
АА	АА 2,3	АА 2,3
АКА	АКА 2,3	АКА 2,3
АЛА	АЛА 2,3	АЛА 2,3
АИА	АИА 2,3	АИА 2,3
Гипермукоидный фенотип	«+» (n=2)	«+» (n=1)
	«-» (n=2)	«-» (n=2)
КР	0,25–0,56	0,31–0,68



* - нарушение идентификационных свойств *Staphylococcus aureus*; ** - анализируются свойства *Proteus mirabilis* как наиболее часто встречающегося представителя *Enterobacteriales*; ***hvKp – гипервирулентный тип *Klebsiella pneumoniae* (гипермукоидный фенотип/fimH+/mkD+/trpA+)

Рисунок – Алгоритм интерпретации результатов микробиологического посева раневого отделяемого
 Figure – Algorithm for interpreting the results of microbiology culture of the wound swabs

ного механического дебрідмента. При наличии клинических признаков воспаления этиологически значимыми считают изоляты, обнаруженные в количестве >10⁵ КОЕ/мл, либо полученные после культивирования в среде обогащения и изучения свойств. В результате посева указывают данные чувствительности изолятов к АБС.

На более поздних сроках существования ОР – от 5 суток до 3 недель – в период пролиферативной фазы и формирования грануляционной ткани важный фактор – определение момента нарушения процесса заживления и развития хронического воспаления. Выделение монокультуры в количестве >10⁵ КОЕ/мл, наличие резистентности к 3 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 ≤10⁵ КОЕ/мл и со среды обогащения, в сочетании с резистентностью к 3 и более АБС, необходимо определение ведущего патогена, нарушающего процесс заживления. Обращают внимание на виды, относящиеся к группе ESKAPE. Клиническое значение изолята в нарушении процесса заживления определяется присутствием фенотипических и генотипических маркеров патогенности. Для *S. aureus* (коагулазопозитивный) важна возможность отсутствия 1-2 из стандартных иден-

тификационных признаков – ЛВ, ГЕМ, М, ПР и проявление ФЛ активности, что служит признаком приобретения персистентных свойств. Для *K. pneumoniae* учитывают наличие гипермукоидного фенотипа.

Весь перечень генотипических маркеров может детектироваться, также возможны разные варианты их сочетаний. В таких случаях, особенно на третьей неделе существования ОР (22-28 суток), обоснован пересмотр тактики ее ведения и использование методов, применяемых для лечения ХР – сеансов механического и физического дебрідмента 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 ХР давностью более 3 недель.

Предоперационная санация критически колонизированных ран должна включать несколько сеансов механического и физического дебрідмента с целью эффективного разрушения матрикса биопленки и препятствия ее реформирования. Системная антибактериальная терапия таких ран не показана. Ввиду риска возникновения системной инфекции наличие инфицированной раны – показание к проведению этиотропной системной антибактериальной терапии в ком-

плексе с местной санацией раны путем использования сеансов механического и физического дебридмента.

Заключение

Представленные данные отражают вариативность проявления фенотипических и генотипических свойств бактериями группы ESKAPE, выделенных из раневого отделяемого пациен-

тов, взаимосвязанную с клиническими особенностями заболевания (давность существования ран, стадия инфекционного процесса). Практическое значение показателей, характеризующих биофильность изолята, заключается в повышении информативности микробиологического посева, оптимизации интерпретации его результатов, возможности обоснования тактики дальнейшего лечения ран.

Литература

- Dinesh, K. A study on ESKAPE pathogens the bad bug with no drug / K. Dinesh, M. Karthick // *Tropical Journal of Pathology and Microbiology*. – 2018. – Vol. 4, iss. 2. – P. 134-138. – doi: 10.17511/jorm.2018.i02.02.
- Фенотипическая пластичность бактерий как стратегия резистентности и обзор современных антимикробных технологий / Б. Г. Андриков [и др.] // *Современные технологии в медицине*. – 2019. – Т. 11, № 2. – С. 164-182. – doi: 10.17691/stm2019.11.2.22. – edn: AGWJRD.
- Госпитальный штамм – непознанная реальность / Н. И. Брико [и др.] // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. – 2013. – № 1. – С. 30-35. – edn: PVSUMN.
- Quorum sensing и коммуникация бактерий / И. А. Хмель [и др.] // *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. – 2008. – № 1. – С. 28-35. – edn: JUTZID.
- Молекулярные системы регулирования формирования биопленок бактерий *Pseudomonas aeruginosa* / О. Ю. Манзенюк [и др.] // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2018. – Т. 73, № 4. – С. 244-251. – doi: 10.15690/vramn1010. – edn: XWOTRR.
- Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном / И. В. Чеботарь [и др.] // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – 2020. – Т. 22, № 1. – С. 4-19. – doi: 10.36488/cmasc.2020.1.4-19. – edn: OCKPAC.
- Comparison of prevalence of virulence factors for *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses between isolates with capsular K1/K2 and non-K1/K2 serotypes / W. L. Yu [et al.] // *Diagn Microbiol Infect Dis*. – 2008. – Vol. 62, № 1. – P. 1-6. – doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2008.04.007.
- Пономаренко, С. В. Микробиологические аспекты стафилококковой инфекции на современном этапе (обзор литературы) / С. В. Пономаренко // *Анализ Мечниковского Института*. – 2013. – № 3. – С. 13-17.
- Shivani, C. Antibiotic susceptibility of ica-positive and ica-negative MRSA in different phases of biofilm growth / C. Shivani, H. Kusum, C. Sanjay // *The Journal of Antibiotics*. – 2015. – Vol. 68. – P. 15-22. – doi: 10.1038/ja.2014.96.
- 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 // *Лабораторная служба*. – 2021. – Т. 10, № 3. – С. 33-42. – doi: 10.17116/labs20211003133. – edn: PHJNNS.
- Метод микробиологической диагностики посттравматической раневой инфекции : инструкция по применению № 211-1215 : утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь 30.06.2016 / А. В. Рожко, Ю. И. Ярец, Н. И. Шевченко ; Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека. – Гомель, 2015. – 8 с.
- Бухарин, О. В. Изучение антикомплиментарной активности стафилококков / О. В. Бухарин, Ю. А. Брудастов, Д. Г. Дерябин // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 1992. – № 11-12. – С. 68-71. – edn: SBTRBD.
- Бухарин, О. В. Антилизозимная активность анаэробных бактерий фекальной микрофлоры человека / О. В. Бухарин, А. В. Вальшов, Н. Н. Елагина // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. – 2000. – № 5. – С. 20-22.
- Методы оценки эпидемиологической значимости патогенных и условно-патогенных микроорганизмов : инструкция по применению № 005-0515 : утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь 18.06.2015 / О. Е. Нежвинская [и др.] ; Научно-практический центр гигиены ; Белорусская медицинская академия последипломного образования ; Минский городской центр гигиены и эпидемиологии. – Минск, 2015. – 30 с.
- Шпицына, И. В. Оценка адгезивной активности бактерий, выделенных у пациентов с инфицированными эндопротезами крупных суставов / И. В. Шпицына, Е. В. Осипова, Н. В. Годовых // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2014. – Т. 59, № 6. – С. 59-61. – edn: SKJAON.
- Detection of icaAD gene and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolates from wound infections / R. Yazdani [et al.] // *Iranian J Publ Health*. – 2006. – Vol. 35, № 2. – P. 25-28.
- Sharma, V. Coagulase gene polymorphism, enterotoxigenicity, biofilm production, and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine raw milk in North West India / V. Sharma, S. Sharma, D. K. Dahiya // *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. – 2017. – Vol. 16. – Art. 65. – doi: 10.1186/s12941-017-0242-9.
- Characteristics of and Virulence Factors Associated with Biofilm Formation in Clinical *Enterococcus faecalis* Isolates in China / J. X. Zheng [et al.] // *J Front. Microbiol*. – 2017. – Vol. 8. – Art. 2338. – doi: 10.3389/fmicb.2017.02338.
- Biofilm formation in enterococci: genotype-phenotype correlations and inhibition by vancomycin / A. Y. Hashem [et al.] // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7, № 1. – Art. 5733. – doi: 10.1038/s41598-017-05901-0.
- Mahmood, T. M. The relationship between biofilm formation and presence of fimH and mrkD genes among *E. coli* and *K. pneumoniae* isolated from patients in Mosul / T. M. Mahmood, B. A. Abdullah // *Mosul Nursing Journal*. – 2015. – Vol. 3, № 1. – P. 34-42. – doi: 10.33899/mjn.2015.160018.
- Virulence and resistance determinants of *Klebsiella pneumoniae* isolated from a Portuguese tertiary university hospital centre over a 31-year period / C. Caneiras [et al.] // *Enferm Infecc Microbiol Clin*. – 2019. – Vol. 37, № 6. – P. 387-393. – doi: 10.1016/j.eimc.2018.11.001.
- Evaluation of mannosidase and trypsin enzymes effects on biofilm production of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn wound infections / M. Banar [et al.] // *PLoS*

- One. – 2016. – Vol. 11, № 10. – P. e0164622. – doi: 10.1371/journal.pone.0164622.
23. Firouzi-Dalvand, L. Identification of *exoS*, *exoU* genes in *Pseudomonas aeruginosa* / L. Firouzi-Dalvand, M. Pooladi // *Journal of Paramedical Sciences*. – 2014. – Vol. 5, № 4. – P. 89-95. – doi: 10.22037/JPS.V5I4.7825.
 24. The correlation between the presence of quorum sensing, toxin-antitoxin system genes and MIC values with ability of biofilm formation in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* / S. Hemati [et al.] // *Iran J Microbiol*. – 2014. – Vol. 6, № 3. – P. 133-139.
 25. Differences in biofilm mass, expression of biofilm-associated genes, and resistance to desiccation between epidemic and sporadic clones of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* sequence type 191 / G. N. Selasi [et al.] // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11, № 9. – P. e0162576. – doi: 10.1371/journal.pone.0162576.
 26. Molecular analysis and expression of *bap* gene in biofilm-forming multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* / O. Azizi [et al.] // *Rep Biochem Mol Biol*. – 2016. – Vol. 5, № 1. – P. 62-72.
 27. Characterization of antibiotic-susceptibility patterns, virulence factor profiles and clonal relatedness in *Proteus mirabilis* isolates from patients with urinary tract Infection in Iran / A. Mirzaei [et al.] // *Infect Drug Resist*. – 2019. – № 12. – P. 3967-3979. – doi: 10.2147/IDR.S230303.
 28. Клинические рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам, Версия 03.2018 [Электронный ресурс] / Р. С. Козлов [и др.] ; Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. – Режим доступа: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2018.pdf>. – Дата доступа: 02.05.2022.
 29. Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам. Таблицы пограничных значений для интерпретации значений МПК и диаметров зон подавления роста. Версия 10.0, действует с 01.01.2020 [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://iasmac.ru/ru/docs/eucast/eucast-clinical-breakpoints-bacteria-10.0-rus.pdf>. – Дата доступа: 02.05.2022.
 30. Гостев, В. В. Микрофлора открытых переломов и резистентность к антибиотикам (II сообщение) // В. В. Гостев, З. С. Науменко, И. И. Маргель // *Травматология и ортопедия России*. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 33-37. – doi: 10.21823/2311-2905-2010-0-1-33-37. – edn: LJLVJDJ.
 31. 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, № 8. – P. 40-48.
 32. Ярец, Ю. И. Особенности микробного пейзажа ран пациентов на различных сроках существования / Ю. И. Ярец // *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. – 2020. – № 4. – С. 34-37. – doi: 10.14427/jipai.2020.4.34. – edn: TYRPTW.
- References**
1. Dinesh K, Karthick M. A study on ESKAPE pathogens the bad bug with no drug. *Tropical Journal of Pathology and Microbiology*. 2018;4(2):134-138. doi: 10.17511/jopm.2018.i02.02.
 2. Andryukov BG, Somova LM, Matosova EV, Lyapun IN. Fenotipicheskaja plastichnost bakterij kak strategija rezistentnosti i obzor sovremennyh antimikrobnih tehnologij (obzor) [Phenotypic plasticity as a strategy of bacterial resistance and an object of advanced antimicrobial technologies (review)]. *Sovremennye tehnologii v medicine*. [Modern technologies in medicine]. 2019;11(2):164-182. doi: 10.17691/stm2019.11.2.22. edn: AGWJRD. (Russian).
 3. Briko NI, Brusina EB, Zueva LP, Kovalishena OV, Ryapis LA, Stasenko VL, Feldblum IV, Shkarin VV. Gospitalnyj shtamm – nepoznannaja realnost [Hospital strain – an unknown reality]. *Epidemiologija i vakcinoprofilaktika* [Epidemiology and Vaccinal Prevention]. 2013;1:30-35. edn: PVSUMN. (Russian).
 4. Khmel IA, Belik AS, Zaitseva UV, Danilova NN. Quorum sensing i kommunikacija bakterij [Quorum sensing and communication of bacteria]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*. [MSU Vestnik. Series 16. Biology]. 2008;(1):28-35. edn: JUTZID. (Russian).
 5. Manzenyuk OYu, Firstova VV, Mukhina TN, Shemyakin IG. Molekuljarnye sistemy regulirovanija formirovanija bioplenok bakterij *Pseudomonas aeruginosa* [Molecular Regulation of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms]. *Vestnik Rossijskoj Akademii medicinskih nauk* [Annals of the Russian Academy of Medical Sciences]. 2018;73(4):244-251. doi: 10.15690/vramm1010. edn: XWOTRR. (Russian).
 6. Chebotar IV, Bocharova YuA, Podoprigora IV, Shagin DA. Pochemu Klebsiella pneumoniae stanovitsja liderujushhim oportunisticheskim patogenom [The reasons why *Klebsiella pneumoniae* becomes a leading opportunistic pathogen]. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija* [Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy]. 2020;20(1):4-19. doi: 10.36488/cmac.2020.1.4-19. edn: OCKPAC. (Russian).
 7. Yu WL, Ko WC, Cheng KC, Lee CC, Lai CC, Chuang YC. Comparison of prevalence of virulence factors for *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses between isolates with capsular K1/K2 and non-K1/K2 serotypes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;62(1):1-6. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2008.04.007.
 8. Ponomarenko SV. Mikrobiologicheskie aspekty stafilokokkovoj infekcii na sovremennom jetape (obzor literatury) [Microbiological aspects of Staphylococcal infections today (literary review)]. *Anali Mechnikovskogo Institutu* [Annals of Mechnikov Institute]. 2013;3:13-17. (Russian).
 9. Shivani C, Kusum H, Sanjay C. Antibiotic susceptibility of *ica*-positive and *ica*-negative MRSA in different phases of biofilm growth. *The Journal of Antibiotics*. 2015;68:15-22. doi: 10.1038/ja.2014.96.
 10. Yarets YI, Shevchenko NI, Eremin VF. Metodologija mikrobiologicheskogo poseva ranevogo otdeljaemogo v ramkah sovremennyh predstavlenij o diagnostike infekcionnogo processa [Methodology of microbiological analysis of wound swabs within the framework of modern concepts of wound infection process]. *Laboratornaja sluzhba* [Laboratory Service]. 2021;10(3):33-42. doi: 10.17116/labs20211003133. edn: PHJNNS. (Russian).
 11. Rozhko AV, Yarets YI, Shevchenko NI; Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology. Metod mikrobiologicheskoy diagnostiki postravmaticheskoy ranevoj infekcii. Instrukcija po primeneniju BY № 211-1215. 30.06.2016. Gomel; 2015. 8 p. (Russian).
 12. Buharin OV, Brudastov JuA, Derjabin DG. Izuchenie antikomplimentarnoj aktivnosti stafilokokkov [Study of the anticomplementary activity of staphylococci]. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika* [Russian Clinical

- Laboratory Diagnostics]. 1992;11-12:68-71. edn: SBTRBD. (Russian).
13. Buharin OV, Valyshov AV, Elagina NN. Antilizocimnaja aktivnost anajerobnyh bakterij fekalnoj mikroflory cheloveka [Antilysozyme activity of anaerobic bacteria of human fecal microflora]. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2000;5:20-22. (Russian).
 14. Nezhvinskaja OE, Tonko OV, Dudchik NV, Kolomic ND, Fedorenko EV, Janeckaja SA, Hanenko ON, Levshina NN; Scientific and Practical Center for Hygiene; Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education; Minsk City Center for Hygiene and Epidemiology. Metody ocenki jepidemiologicheskoy znachimosti patogennyh i uslovno-patogennyh mikroorganizmov. Instrukcija po primeneniju BY № 005-0515. 18.06.2015. Minsk; 2015. 30 p. (Russian).
 15. Shipicyna IV, Osipova EV, Godovykh NV. Ocenka adhezivnoj aktivnosti bakterij, vydelennyh u pacientov s inficirovannymi jendoprotezami krupnyh sustavov [The evaluation of adhesive activity of bacteria extracted from patients with infected endoprostheses of large joints]. Klinicheskaja laboratornaja diagnostika [Russian Clinical Laboratory Diagnostics]. 2014;59(6):59-61. edn: SKJAON. (Russian).
 16. Yazdani R, Oshaghi M, Havayi A, Pishva E, Salehi R, Sadeghizadeh M, Foroohesh H. Detection of icaAD gene and biofilm formation in Staphylococcus aureus isolates from wound infections. Iranian J Publ Health. 2006;35(2):25-28.
 17. Sharma V, Sharma S, Dahiya DK. Coagulase gene polymorphism, enterotoxigenicity, biofilm production, and antibiotic resistance in Staphylococcus aureus isolated from bovine raw milk in North West India. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2017;16:65. doi:10.1186/s12941-017-0242-9.
 18. Zheng JX, Wu Y, Lin ZW, Pu ZY, Yao WM, Chen Z, Li DY, Deng QW, Qu D, Yu ZJ. Characteristics of and Virulence Factors Associated with Biofilm Formation in Clinical Enterococcus faecalis Isolates in China. J Front. Microbiol. 2017;8:2338. doi: 10.3389/fmicb.2017.02338.
 19. Hashem AY, Amin HM, Esam TM, Yassin AS, Aziz RK. Biofilm formation in enterococci: genotype-phenotype correlations and inhibition by vancomycin. Scientific Reports. 2017;7(1):5733. doi: 10.1038/s41598-017-05901-0.
 20. Mahmood TM, Abdullah BA. The relationship between biofilm formation and presence of fimH and mrkD genes among E. coli and K. pneumoniae isolated from patients in Mosul. Mosul Nursing Journal. 2015;3(1):34-42. doi:10.33899/mjn.2015.160018.
 21. Caneiras C, Lito L, Mayoralas-Alises S, Díaz-Lobato S, Melo-Cristino J, Duarte A. Virulence and resistance determinants of Klebsiella pneumoniae isolated from a Portuguese tertiary university hospital centre over a 31-year period. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2019;37(6):387-393. doi: 10.1016/j.eimc.2018.11.001.
 22. Banar M, Emaneini M, Satarzadeh M, Abdellahi N, Beigverdi R, Leeuwen WB, Jabalameli F. Evaluation of mannosidase and trypsin enzymes effects on biofilm production of Pseudomonas aeruginosa isolated from burn wound infections. PLoS One. 2016;11(10):e0164622. doi: 10.1371/journal.pone.0164622.
 23. Firouzi-Dalvand L, Pooladi M. Identification of exoS, exoU genes in Pseudomonas aeruginosa. Journal of Paramedical Sciences. 2014;5(4):89-95. doi: 10.22037/JPS.V5I4.7825.
 24. Hemati S, Azizi-Jalilian F, Pakzad I, Taherikalani M, Maleki A, Karimi S, Monjezei A, Mahdavi Z, Fadavi MR, Sayehmiri K, Sadeghifard N. The correlation between the presence of quorum sensing, toxin-antitoxin system genes and MIC values with ability of biofilm formation in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Iran J Microbiol. 2014;6(3):133-139.
 25. Selasi GN, Nicholas A, Jeon H, Na SH, Kwon HI, Kim YJ, Heo ST, Oh MH, Lee JC. Differences in biofilm mass, expression of biofilm-associated genes, and resistance to desiccation between epidemic and sporadic clones of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii sequence type 191. PLoS One. 2016;11(9):e0162576. doi: 10.1371/journal.pone.0162576.
 26. Azizi O, Shahcheraghi F, Salimizand H, Modarresi F, Shakibaie MR, Mansouri S, Ramazanzadeh R, Badmasti F, Nikbin V. Molecular analysis and expression of bap gene in biofilm-forming multi-drug-resistant Acinetobacter baumannii. Rep Biochem Mol Biol. 2016;5(1):62-72.
 27. Mirzaei A, Habibi M, Bouzari S, Karam MRA. Characterization of antibiotic-susceptibility patterns, virulence factor profiles and clonal relatedness in proteus mirabilis isolates from patients with urinary tract Infection in Iran. Infect Drug Resist. 2019;12:3967-3979. doi: 10.2147/IDR.S230303.
 28. Klinicheskie rekomendacii. Opredelenie chuvstvitelnosti mikroorganizmov k antimikrobnym preparatam [Clinical recommendations. Susceptibility testing of microorganisms to antimicrobial agents]. Version 03.2018 [Internet]. Available from: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrecdsma2018.pdf> (Russian).
 29. Evropejskij komitet po opredeleniju chuvstvitelnosti k antimikrobnym preparatam. Tablicy pogranychnyh znachenij dlja interpretacii znachenij MPK i diametrov zon podavlenija rosta [The European Committee on antimicrobial susceptibility testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters]. Version 10.0, 01.01.2020 [Internet]. Available from: <https://iacmac.ru/ru/docs/eucast/eucast-clinical-breakpoints-bacteria-10-0-rus.pdf> (Russian).
 30. Gostev VV, Naumenko ZS, Martel II. Mikroflora otkrytyh perelomov i rezistentnost k antibiotikam (II soobshhenie) [Open fractures wound microflora resistance to antibiotics (II report)]. Travmatologija i ortopedija Rossii [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2010;16(1):33-37. doi: 10.21823/2311-2905-2010-0-1-33-37. edn: LJLVDJ. (Russian).
 31. Woo KY, Sibbald GR. A cross-sectional validation study of using NERDS and STONEES to assess bacterial burden. Octomy wound management. 2009;55(8):40-48.
 32. Yarets YI. Osobennosti mikrobnogo pejzazha ran pacientov na razlichnyh srokah sushhestvovaniya [Features of the microbial landscape of patients' wounds at different periods of existence Immunopathology]. Immunopatologija, allergologija, infektologija [Immunopathology, Allergology, Infectology]. 2020;4:34-37. doi: 10.14427/jipai.2020.4.34. edn: TYRPTW. (Russian).

PATHOGENIC POTENTIAL OF ESKAPE GROUP BACTERIA ISOLATED FROM WOUNDS: CHARACTERIZATION OF PHENOTYPIC AND GENOTYPIC MARKERS AND POSSIBILITY OF THEIR PRACTICAL APPLICATION

Yu. I. Yarets

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

Background. Evaluation of the biological properties of isolates obtained from the clinical samples of patients will increase the informative value of the microbiological study and optimize the interpretation of the culture results in order to substantiate further wound treatment tactics.

Aim. To analyze the phenotypic and genotypic properties of ESKAPE bacteria and to determine the possibility of practical use of the parameters characterizing the bioprofile of the isolate when interpreting the results of microbiological culture of the wound swabs.

Material and methods. Pheno- and genotypic markers of the pathogenic potential of ESKAPE isolates were analyzed: *Enterococcus faecalis* (n=93), *Staphylococcus aureus* (n=177), *Klebsiella pneumoniae* (n=7), *Acinetobacter baumannii* (n=32), *Pseudomonas aeruginosa* (n=45), *Enterobacteriales* (*Proteus mirabilis*, n=26). Microorganisms were isolated from the wound swabs of patients with acute and chronic wounds, who were admitted to the burn department of the Gomel City Clinical Hospital No. 1 for specialized medical care during the period 2012-2020. Integumentary tissue defects were represented by post-traumatic wounds (mechanical trauma, thermal burns), post-necrotic wounds (after purulent-inflammatory diseases of the skin and underlying tissues), trophic ulcers (on the stumps of the lower extremities after prolonged wearing of the prosthesis; neurotrophic ulcers after mechanical trauma to peripheral nerves); pressure ulcers stage III after prolonged tissue compression. When describing the isolates, the duration of the wounds and the presence of clinical signs of infectious inflammation were taken into account.

Results. The relationship between the clinical state of the wound (no signs of inflammation, critical colonization, infection) and the bioprofile of the isolate obtained from the wound swabs was determined. Potentially pathogenic *S. aureus*, possessing colonization, invasive and cytotoxic properties, was found in wounds with a minimum duration of up to 4 days, but the absence of clinical manifestations of infection suggested contamination. Biofilm formation, persistent properties, genetic markers of pathogenicity in *S. aureus* and *E. faecalis* in combination with pathological changes in fine-grained granulations in the wound indicated colonization. The inflammatory status of the wounds (critical colonization and infection according to NERDS&STONEES criteria) from which *P. aeruginosa* and *A. baumannii* were isolated, the presence of genetic virulence markers, and antibiotic resistance indicated the clinical significance of these isolates as etiological agents of the infectious process. *P. mirabilis* isolated from critically colonized and infected wounds did not have the full range of virulence markers in all cases, especially in associations. *K. pneumoniae* was isolated only from the wounds showing signs of inflammation and demonstrated various combinations of genetic determinants of virulence, variability in capsular polysaccharide overproduction and biofilm formation.

Conclusion. An algorithm has been developed for interpreting the results of microbiological culture of wound swabs with the use of pheno- and genotypic markers, which are recommended for determining the leading pathogen that colonizes the wound and disrupts the healing process. The algorithm allows assessing the etiological significance of mixed cultures isolated from critically colonized and infected wounds, which will determine the further tactics of treating patients.

Keywords. ESKAPE pathogens, wound infection, microbiological culture, interpretation of results, pathogenic potential, virulence markers.

For citation: Yarets YI. Pathogenic potential of escape group bacteria isolated from wounds: characterization of phenotypic and genotypic markers and the possibility of their practical application. *Journal of the Grodno State Medical University.* 2022;20(4):400-413. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2022-20-4-400-413>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование было выполнено в рамках финансируемого задания государственной программы научных исследований на 2021-2025 гг. ГПНИ 4 «Трансляционная медицина», подпрограмма 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки» по теме «3.20 Изучение патогенного потенциала клинически значимых штаммов бактерий для повышения эффективности системы инфекционного контроля в стационаре».

Financing. The study was carried out as part of a funded assignment from the state research program for 2021-2025 "Translational Medicine", subprogram 4.2 "Fundamental aspects of medical science" on the topic "3.20 Study of the pathogenic potential of clinically significant bacterial strains to improve the effectiveness of the infection control system in the hospital."

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Об авторе / About the author

Ярец Юлия Игоревна / Yarets Yulia, e-mail: artyut@mail.ru, ORCID: 0000-0001-8879-5079

Поступила / Received: 05.05.2022

Принята к публикации / Accepted for publication: 01.07.2022