

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, МИКРОБИОЛОГИЯ, ИНФЕКЦИОННЫЕ И ПАРАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ

EPIDEMIOLOGY, MICROBIOLOGY, INFECTIOUS AND PARASITIC DISEASES

УДК 614.2:616.9:576.858.9

© Коллектив авторов, 2012

РОЛЬ БАКТЕРИОФАГОВ В ГОРИЗОНТАЛЬНОМ ГЕНЕТИЧЕСКОМ ОБМЕНЕ СРЕДИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ В СТАЦИОНАРАХ

ROLE OF BACTERIOPHAGES IN HORIZONTAL GENETIC EXCHANGE AMONG CAUSATIVE AGENTS OF INFECTIONS IN HOSPITALS

Б.И. Асланов¹, А.А. Долгий¹, А.Е. Гончаров¹, А.И. Архангельский²B.I. Aslanov¹, A.A. Dolgiy¹, A.E. Goncharov¹, A.I. Arkhangelskiy²¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург²Медико-санитарная часть № 70 Санкт-Петербургского государственного унитарного предприятия пассажирского автомобильного транспорта, Санкт-Петербург¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg²Medical Sanitary Department № 70 of Saint-Petersburg State Unitary Authority of Passenger Road Transportation, Saint-Petersburg

Контакт: Б.И. Асланов, e-mail: batyra@mail.ru

В настоящее время доказано, что важную роль в формировании патогенных свойств возбудителей инфекций играют бактериофаги. Был проведён горизонтальный генетический обмен профаговыми генами вирулентности у штаммов *E. coli* (ген *c2418*) и *Enterococcus* sp. (gp2), вызывающих инфекции мочевыводящих путей. Высокий процент передачи гена *c2418* (у 80% и 73,3% испытуемых штаммов) характеризует интенсивный горизонтальный генетический обмен, осуществляемый умеренными фагами, содержащими ген *c2418*. Для штаммов *P. aeruginosa*, вызывающих инфекции в травматологическом отделении, и штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, вызывающих инфекции в ожоговом реанимационном отделении, было показано, что лизогенизация может привести к появлению дополнительной устойчивости к антибиотикам. Необходимо проведение дальнейших исследований для изучения механизмов горизонтального генетического обмена у возбудителей инфекций.

Ключевые слова: бактериофаг, горизонтальный генетический обмен, госпитальный штамм.

Now it is proved that bacteriophages play an important role in the formation of the pathogenic properties of infectious agents. Horizontal genetic exchange by prophage virulence genes was carried out in strains of *E. coli* (gene *c2418*) and *Enterococcus* sp. (gp2), causing urinary tract infections. High percentage of gene *c2418* transfer (80% and 73.3% of tested strains) shows intensive horizontal genetic exchange effected by phages containing gene *c2418*. For strains of *P. aeruginosa*, causing infection in the trauma unit and strains of *P. aeruginosa* and *A. baumannii*, causing infection in the burn intensive care unit, it was shown that lysogenization may lead to an additional antibiotic resistance. Further research is needed for studying mechanisms of horizontal genetic exchange in causative agents of infections.

Key words: bacteriophage, horizontal genetic exchange, hospital strain.

Введение

В настоящее время благодаря значительному развитию молекулярной биологии стало возможно изучение механизмов горизонтального генетического обмена между микробами, способного приводить к увеличению патогенного потенциала бактерий и

формированию госпитальных штаммов. Следует отметить важную роль бактериофагов в этом процессе. Бактериофаги имеют древнюю эволюционную связь с бактериями, способны передавать довольно крупные участки генома между бактериями и способствуют

разнообразие генома микробов путём осуществления горизонтального генетического обмена между бактериями [1, 3, 5]. В настоящее время изучены процессы трансдукции и лизогенной конверсии у многих патогенных бактерий [1, 3, 4].

Поэтому данная научная проблема является актуальной в системе современного здравоохранения и требует дальнейшего изучения. Следовательно, необходимо дальнейшее изучение роли бактериофагов в формировании госпитальных штаммов возбудителей различных инфекций и механизмов формирования госпитальных штаммов с целью последующей разработки новых мероприятий по эпидемиологическому надзору.

Цель исследования — оценить явление горизонтального генетического обмена, осуществляемого бактериофагами, у возбудителей инфекций в травматологическом стационаре, в ожоговом реанимационном отделении и урологических отделениях.

Материалы и методы

Трансдукционный эксперимент для штаммов энтерококков, кишечных палочек и клебсиелл, выделенных в ходе исследования в урологических стационарах МСЧ №70 ГУП «Пассажиравтотранс» и ГБ № 26, проводился по следующей методике.

Сначала проводилась индукция лизогенных штаммов, у которых ранее были обнаружены профаговые гены вирулентности при помощи ПЦР-методик.

Приготавливались десятикратные разведения в стерильном сахарном бульоне ночных культур исследуемых штаммов (предварительно инкубированных в течение 18–20 ч в термостате при температуре 37°C), подращенные 2–3 ч до умеренной мутности. Индукцию штаммов проводили ципрофлоксацином, доводя концентрацию его содержания в растворе со штаммами до 32 мг/л (сублетальная доза для энтерококков [2]) в опыте с энтерококками, до 0,12 мг/л (сублетальная доза для *E. coli* [2]) в опыте с кишечными палочками и до 1,57 мг/л (сублетальная доза для клебсиелл [2]) в опыте с клебсиеллами. Затем полученный раствор размешивали 5 мин при 250 оборотах в минуту на орбитальном шейкере. Затем инкубировали 2–4 ч до наступления просветления в пробирках. Содержимое пробирок фильтровали бактериальными фильтрами «Minisart» фирмы «Sartorius AG», Германия, с диаметром пор 0,2 мкм.

Трансдукцию проводили следующим образом. К 0,25 мл фильтрата индуцированных штаммов добавляли 0,25 мл десятикратного разведения ночных культур индикаторных штаммов (инкубированного до умеренной мутности) и 0,5 мл сахарного бульона. К полученному раствору добавляли растворы ДНКазы и РНКазы (производства фирмы «Биолот», Санкт-Петербург) в ТЕ буфере фирмы AmpliSens (производства ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора) для достижения содержания каждого из этих веществ в растворе в концентрации 5 мкг/мл. Данные ферменты применялись в качестве элективного фактора, позволяющего элиминировать влияние мобильных генетических элементов, не

защищённых прочной оболочкой, путём разрушения их нуклеиновых кислот.

Полученную смесь инкубировали в термостате в течение 30 мин и взбивали на орбитальном шейкере при 250 оборотах в минуту в течение 20 мин. Затем содержимое пробирок высевали на кровяной агар и энтерококк агар (при исследовании энтерококков) либо среду эндо (при исследовании *E. coli* и *Klebsiella* sp.) бактериологической петлёй 0,1 см. Чашки инкубировали 18 ч при температуре 37°C. Выделяли чистую культуру с чашек согласно общепринятым бактериологическим методам.

Геномную ДНК выделяли температурной обработкой суспензии бактерий (брали культуры на треть бактериологической петли 0,3 см с поверхности питательной среды и помещали бактериологической петлей в пробирки с 250 мл реагента «ДНК-экспресс» производства фирмы «Литех», Москва) в течение 15 мин при температуре 97°C. Затем содержимое пробирок взбивали на вортексе. После центрифугирования (2 мин при 13 000 оборотов в минуту) надосадочный раствор использовали в качестве образца ДНК непосредственно или замораживали при -20°C для последующего анализа.

Затем штаммы исследовали на наличие фагоопосредованных факторов вирулентности при помощи ПЦР-методик (табл.).

Для упрощения написания гомологи фаговых генов вирулентности сальмонеллы и кишечной палочки, выявленные у клебсиеллы, обозначаются в настоящей статье *gyfsyl* и *bor*.

Суть эксперимента с изолятами *P. aeruginosa*, выделенными от пациентов травматологического стационара, заключалась в индукции профагов из предполагаемых лизогенных штаммов. При появлении литической активности можно было судить о возможной лизогенности данного штамма. Индукция осуществлялась путем обработки специально подобранным антибиотиком ципрофлоксацином штаммов синегнойной палочки, инкубированных в жидкой среде до середины логарифмической фазы роста. После 18-часового культивирования штаммов с антибиотиком жидкость фильтровалась и проверялась на литическую активность на различных индикаторных культурах *P. aeruginosa*, состоящих из взятых для индукции штаммов и штаммов, обладающих заведомо широким спектром чувствительности к синегнойным бактериофагам.

Условия постановки опытов не различались для штаммов *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов ожогового реанимационного отделения. Бактериальные культуры подвергали искусственной лизогенизации путем обработки фагами с недостаточной для полного лизиса вирулентностью и отбора колоний вторичного роста из негативного пятна на плотной питательной среде. Фагорезистентные клоны пересевали на плотную питательную среду и затем проверяли на лизогенность. Для этого проводили опыт индукции фагов антибиотиком ципрофлоксацином или 5% формальдегидом в чашечном экспресс-тесте. Лизогенизированные культуры ацинетобактер были способны продуцировать бактериофаг спонтанно при выращивании в жидкой питательной среде в течение 18–22 ч.

Праймеры, использованные в настоящем исследовании для выявления фаговых генов вирулентности у штаммов E. coli (cdt1, c2418), Enterococcus sp. (gp2, yopX) и Klebsiella sp. (gyfsy1, bor)

№	Ген	Наименование праймера	Последовательность (5'-3')	Размер ПЦР-продукта, н.п.	Т отжига, °С	Ссылка на источник
1	cdt1	CDT-s1	GAAAGTAAATGGAATATAAATGTCCG	466	55	Toth I. et.al., 2003 [6]
2		CDT-as1	AAATCACCAAGAATCATCCAGTTA			
3	c2418	c2418F	TGGCGCTGGCGTGGCATAAA	929	64,7	Настоящее исследование
4		c2418R	AGGCGGTGCATAAGATTCTCGGC			
5	gp2	gp2F	ACCGTAATGACAGCGTGAGGGT	195	61	
6		gp2R	AGCCGAAACTGCTGCCCAGTC			
7	yopX	yopXF	AGATGGTGTGACCCAGAGGA	235	57	
8		yopXR	ACCCATGGTTCAATTCTTTTGCGA			
9	NC_011283 (гомолог профагового гена gyfsy1 Salmonella enterica)	gyfsy1F	CGGGAAACCACCACCGCCTC	98	65	
10		gyfsy1R	AGTCGCCGGAAGAGCGAGGG			
11	ybcU, гомолог профагового гена bor E. coli	borF	CACACGCGCTTCCAGCGGAG	184	65	
12		borR	TTCTGCCGCTCTGGCAATGCT			

Результаты и обсуждение

Для оценки возможностей передачи фагоопосредованных генов вирулентности бактериофагами у штаммов преобладающих клональных линий основных возбудителей ИМП, циркулирующих в урологических отделениях, была проведена серия экспериментов по осуществлению генетического обмена. В качестве штаммов-реципиентов выступали чувствительные к бактериофагам индикаторные культуры с отсутствием исследуемых генов вирулентности.

Для опыта отбирались штаммы ведущих клональных линий госпитальных штаммов возбудителей ИМП от пациентов урологических отделений МСЧ № 70 и городской больницы № 26, содержащие фаговые факторы вирулентности.

В ходе эксперимента со штаммами энтерококков получилось осуществить передачу гена gp2 у 5 штаммов (у одного штамма (5,56%) индикаторной культуры ATCC и у 4 штаммов (22,22%) индикаторной культуры С). Всего тестировались по 18 штаммов доноров к каждой из двух индикаторных культур реципиентов. Передачи генов yopX, pblA и pblB осуществить не удалось.

Среди исследованных штаммов E. coli передача гена c2418 была проведена у 23 штаммов (у 12 штаммов (80%) индикаторной культуры К и у 11 штаммов (73,33%) индикаторной культуры № 774). Всего тестировались по 15 штаммов доноров к каждой из двух индикаторных культур реципиентов. Передачи

гена cdt1 осуществить не удалось. Вероятно, столь высокие показатели частот передачи фагового гена c2418 в эксперименте объясняются высоким уровнем трансдукционного потенциала профага, содержащего этот ген.

У штаммов Klebsiella sp. не удалось осуществить передачу генов вирулентности gyfsy1 и bor в ходе эксперимента.

По разработанной нами методике была проведена попытка индукции профагов из предположительно лизогенных культур P. aeruginosa, выделенных от пациентов травматологического стационара. Положительные результаты были получены только в отношении штаммов синегнойной палочки, которые были условно отнесены к фаговару XIV, устойчивому ко всем фагам. Интенсивная циркуляция этого фаговара в стационаре позволяет судить о широком распространении явления лизогении среди культур синегнойной палочки, выделенных в стационаре. Не исключено, что, применив более совершенную методику индукции, мы выявили бы лизогенность и у других фаговаров P. aeruginosa. После получения нечувствительных к лизогенизирующему фагу культур вторичного роста была проведена одномоментная сравнительная оценка антибиотикорезистентности исходных и лизогенизированных штаммов синегнойной палочки и установлено, что у некоторых штаммов изменялась чувствительность.

Нами были проведены эксперименты по формированию искусственной лизогенности госпитальных

штаммов *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов ожогового реанимационного отделения, и оценке изменения чувствительности к антибактериальным препаратам у исходных и лизогенизированных штаммов.

Штамм ацинетобактера 102 снизил свою чувствительность к карбенициллину и сульфадиазину серебра, штамм 1160 снизил чувствительность к цефтазидиму. Приобретение устойчивости к карбенициллину штаммом 102 при лизогенизации фагами 195 и 437, возможно, было связано с трансдукцией соответствующего гена, поскольку данные фаги предварительно выращивали на резистентной к карбенициллину культуре 1160. Приобретение устойчивости к сульфадиазину серебра и цефтазидиму, по-видимому, не связано с трансдукцией фагами детерминант устойчивости к этим препаратам, так как культура 1160 не обладала выраженной устойчивостью к ним.

В процессе лизогенизации ни у одной из лизогенизированных культур не изменился профиль RAPD, что свидетельствовало об отсутствии сильных изменений в их геноме.

Ряд лизогенных производных культур синегнойной палочки 922 и 536 приобрел устойчивость к аминогликозидам (гентамицину, амикацину и тобрамицину). Устойчивость к данным антибиотикам сохранялась при дальнейших пересевах лизогенизированных культур, что свидетельствовало об изменениях на генетическом уровне. Достоверность результатов определения чувствительности к гентамицину, полученных стандартным диско-диффузионным методом, подтверждалась методом серийных разведений в агаре. Наибольшая минимальная ингибирующая концентрация была определена для штамма 536 (52 ind), полученного при лизогенизации 536 культуры умеренным фагом 52 ind.

Заключение

Высокое распространение гена *c2418* в популяциях исследованных штаммов кишечных палочек (из 59 исследованных штаммов от пациентов МСЧ № 70 ген был обнаружен у 45 (76,3%) эшерихий, из 56 исследованных штаммов из ГБ № 26 ген был обнаружен у 45 (80,3%) кишечных палочек) может быть результатом интенсивного горизонтального генетического обмена между штаммами, осуществляемого умеренными фагами, содержащими ген *c2418*. Как было показано в наших прошлых исследованиях, штаммы с наличием гена *c2418* отличались высокой вирулентностью и полиантибиотикорезистентностью, часто вызывали внутрибольничные инфекции. Таким образом, можно предполагать влияние фага, содержащего ген *c2418*, на формирование госпитальных штаммов в изученных урологических стационарах.

У штаммов энтерококков также отмечается данное явление. Однако из-за меньшей распространённости профаговых генов у штаммов энтерококков и

меньшей интенсивности горизонтального генетического обмена геном *grp2* можно говорить о меньшем значении изучаемых профагов в формировании госпитальных штаммов энтерококков, чем гена *c2418* у *E. coli*.

В случае исследования *P. aeruginosa* из травматологического стационара мы можем предположить, что лизогенизация синегнойной палочки могла явиться причиной приобретения повышенной резистентности к антибиотикам. Установленный факт может нести в госпитальных условиях определенные опасности: вполне возможно, что стихийная циркуляция в стационаре низковирулентных бактериофагов влияет на спонтанное изменение свойств возбудителей ГСИ, участвуя в формировании госпитальных штаммов с повышенной резистентностью к антибиотикам.

Культуры ацинетобактер и синегнойной палочки, выделенные от пациентов ожогового реанимационного отделения, при лизогенизации низковирулентными бактериофагами в ряде случаев приобретали устойчивость к антибиотикам различных фармакологических групп. Учитывая, что количество антибиотиков, к которым культуры приобретали устойчивость, было разным при обработке различными бактериофагами, представляется весьма вероятным, что генетические структуры, содержащие гены устойчивости к антибиотикам, связаны с фаговым геномом. В то же время мы не можем исключить, что в фаголизатах, которыми обрабатывали исходные культуры, содержались какие-либо генетические элементы, передаваемые параллельно, но независимо от фаговой ДНК.

Литература

1. Крылов В.Н. Роль горизонтального переноса генов бактериофагами в возникновении патогенных бактерий / В.Н. Крылов // Генетика. — 2003. — №. 5. — С. 595–620.
2. Яковлев В.П. Ципрофлоксацин в клинической практике / В.П. Яковлев, Е.Н. Падейская, С.В. Яковлев. — М., 2009. — 316 с.
3. Brüssow H. Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion / H. Brüssow, C. Canchaya, W.D. Hardt // Microbiol Mol Biol. — 2004. — V. 68 (3). — P. 560–602.
4. Chen J. Phage-mediated intergeneric transfer of toxin genes / J. Chen, R.P. Novick // Science. — 2009. — V. 323 (5910). — P. 131–139.
5. Hendrix R.W. Evolutionary relationships among diverse bacteriophages and prophages: all the world's a phage / R.W. Hendrix [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. — 1999. — V. 96 (5). — P. 2192–2197.
6. Tóth I. Production of cytolethal distending toxins by pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from human and animal sources: establishment of the existence of a new *cdt* variant (Type IV) / I. Tóth [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2003. — V. 41 (9). — P. 4285–4291.

УДК 615.33:616-001.17

© Н.В. Захарова, Д.С. Медведев, 2012

СНИЖЕНИЕ ЛЕТАЛЬНОСТИ И УМЕНЬШЕНИЕ ПРЯМЫХ ЗАТРАТ НА ЛЕЧЕНИЕ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ДЕЭСКАЛАЦИОННОЙ СТРАТЕГИИ АНТИМИКРОБНОЙ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ОЖГОВОЙ ТРАВМЫ

DECREASING OF FATALITY RATE AND LOWERING OF DIRECT COSTS OF TREATMENT FOR USING OF DE-ESCALATION STRATEGY TO ANTIBIOTIC THERAPY OF INFECTION DUE TO THERMAL INJURY

Н.В. Захарова¹, Д.С. Медведев²N.V. Zakharova¹, D.S. Medvedev²¹ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург² Медико-санитарная часть «Северсталь», Череповец¹ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg² Medical Sanitary Department «Severstal», Cherepovets

Контакт: Н.В. Захарова, e-mail: nvzakharova@mail.ru

Рассмотрены инфекционные осложнения термических ожогов и деэскалационная антимикробная терапия при лечении инфекции ожоговых ран. Оценено влияние деэскалационной терапии на летальность и затраты. 77 пациентов с инфекционными осложнениями ожоговых ран были распределены в группу деэскалации и группу стандартной терапии. Показано снижение летальности и прямых затрат на лечение в группе деэскалации.

Ключевые слова: деэскалация, ожоги, расходы на лечение, анализ «затраты — эффективность», снижение летальности.

The influence of de-escalation treatment on fatality rate and costs is estimated. 77 patients with infectious complications of burns were randomized into two groups: de-escalation group and standard therapy group. A decrease of fatality rate and direct costs showed in the de-escalation group.

Key words: de-escalation, burns, treatment costs, cost-effectiveness analysis, decrease of fatality rate.

Введение

По данным РосСтата, в 2010 г. от внешних причин умерло 216 867 жителей Российской Федерации, что составило 10,7% от всех умерших за 2010 г. [2]. Ожоговая травма вносит значительную долю в эти показатели. Внутрибольничная летальность, по данным Американской ожоговой ассоциации за 2010–2011 гг., составляет 3,9% [3].

Риск летального исхода зависит от многих факторов. Первое место в структуре причин смерти от ожоговой травмы занимают инфекционные осложнения. Например, развитие сепсиса сопряжено с 63–67% риском летального исхода [6]. Наряду с инфекцией ожоговых ран, причиной сепсиса является инфекция нижних дыхательных путей. Пациенты с термическими ожогами, даже при отсутствии термоингаляционной травмы, подвержены развитию пневмонии. При развитии пневмонии летальность у пациентов с ожогами достигает 40% [13]. Доказано, что неадекватная стартовая терапия пневмонии ассоциирована с повышением летальности [11]. Улучшению прогноза при пневмонии способствует применение альтернативных режимов антимикробной терапии, таких как деэскалация [5]. Деэскалационный режим введения антимикробных препаратов предполагает эмпирическое назначение антибио-

тиков широкого спектра действия на старте лечения для воздействия на максимальное количество видов этиотропных микроорганизмов. Второй этап — непосредственно деэскалация — предполагает сужение спектра антибиотиков для воздействия на идентифицированный микроорганизм.

Представление о лечении тяжелой термической травмы эволюционирует. Предлагаются новые методики лечения, перевязочные средства, медикаменты, в том числе и антибактериальные препараты. Наряду с этим, меняется представление об оценке предложенных инноваций. В XX в. основным показателем эффективности лечения данных пациентов являлась летальность. Если в 1950 г. процент ожога от общей поверхности тела с летальностью 50% (LD50) для возраста 21 год равнялся 45%, то уже в 1990 г. данный показатель достигает 84% [7]. Это свидетельствует о совершенствовании оказания помощи пациентам с термической травмой. В связи со снижением летальности от ожогов в настоящее время на первый план выходят другие показатели оценки лечения, такие как средняя длительность пребывания пациента в стационаре и, в частности, в отделении интенсивной терапии. В исследованиях доказано, что выбор антимикробного препарата для стартовой терапии влияет на продолжительность лечения [16].

Медицинская помощь пациентам с тяжелой термической травмой относится к разряду высокотехнологичной. Многие страны мира разделяют концепцию оказания данного вида помощи в условиях специализированных ожоговых центров. Лечение каждого пациента с обширными ожогами сопряжено со значительными материальными затратами. Расходы на лечение в стационаре одного пациента с тяжелой термической травмой в Испании достигают 40 000 евро [4]. Средняя стоимость одних суток лечения пациентов в отделениях интенсивной терапии ожоговых центров колеблется от 280 долларов в Венгрии до 1512 долларов в Великобритании [9].

Затраты на лечение пациентов с ожогами делятся на прямые (связанные с нахождением пациента в стационаре и лечением на амбулаторном этапе и реабилитации) и косвенные, или альтернативные затраты, издержки упущенных возможностей (затраты, связанные с потерей трудоспособности, оплатой листов нетрудоспособности и др.). В ряде исследований показано, что наибольшая часть прямых расходов на лечение данных пациентов связана с медикаментозной терапией, в частности, с расходами на антимикробные препараты системного действия [10, 12]. Проведенные исследования по применению деэскалационного режима антимикробной терапии при лечении вентилятор-ассоциированной пневмонии показывают экономические преимущества перед традиционными схемами введения антибиотиков [8, 14].

В последние годы фармакоэкономический анализ является неотъемлемой частью оценки медицинских технологий. Учитывая опубликованные данные, деэскалационный режим антимикробной терапии представляется перспективным направлением в лечении инфекционных осложнений ожоговой травмы.

Цель исследования — оценить влияние деэскалационного режима антимикробной терапии на частоту развития нозокомиальной пневмонии, летальность, длительность пребывания в отделении, прямые медицинские затраты при лечении инфекционных осложнений термических ожогов.

Материалы и методы

Обследовано 77 пациентов с термическими ожогами 20–70% от общей поверхности тела, с глубокими ожогами (III–IV степени) 20% и более от общей поверхности тела с наличием инфекционных осложнений ожоговой болезни: инфекция ожоговых ран, пневмония, сепсис.

37 пациентов выделены в группу деэскалационной терапии (группа «Д»). Стартовая системная антибактериальная терапия: Ванкомицин + Меропенем. Деэскалация на основании результатов микробиологического исследования.

40 пациентов выделены в контрольную группу (группа «К»). Стандартная стартовая системная антибактериальная терапия включала Оксациллин в сочетании со следующими антибиотиками при необходимости: Амикацин или Амоксициллин/клавуланат или Цефтриаксон, в зависимости от локализации ожоговых ран. Затем смена антибактериальной терапии по результатам данных микробиологического исследования раневого отделяемого/мокроты/

крови. Группы были однородными по полу и возрасту (табл. 1).

Таблица 1

Распределение пациентов по полу и возрасту

Группа	Количество	Мужчины	Женщины	Возраст, лет
Группа «Д»	37	72,97%	27,03%	40,35±11,84
Группа «К»	40	72,5%	27,5%	45,55±16,68

Процент общей площади ожогов и процент глубоких ожогов достоверно не отличались в обеих группах (табл. 2).

Таблица 2

Общая распространенность ожогов и распространенность глубоких ожогов

Группа	Общий процент ожогов от общей поверхности тела, %	Процент глубоких ожогов от общей поверхности тела, %
Группа «Д»	43,54±13,57	28,22±12,94
Группа «К»	38,63±15,75	30,7±13,28

Термоингаляционная травма (ТИТ) чаще встречалась в группе деэскалации. Тяжесть состояния, определенная в день поступления по шкале АРАСНЕ II и по модифицированному индексу термического поражения (МИТП), была одинакова в обеих группах (табл. 3).

Таблица 3

ТИТ и оценка тяжести состояния по шкале АРАСНЕ II и МИТП

Группа	ТИТ, %	АРАСНЕ II	МИТП
Группа «Д»	35,14	7,03±4,02	145,27±55,64
Группа «К»	27,5	8,8±4,56	139,25±55,15

Статистические расчеты производились с помощью интернет-ресурса StatPages [15].

Результаты и обсуждение

Нозокомиальная пневмония развилась у 15 пациентов в группе «Д» и у 29 пациентов в группе «К» (40,5% vs. 72,5%; $p = 0,005$).

Отношение шансов (odds ratio, OR): сравнение вероятности развития пневмонии в группе деэскалации по сравнению с контрольной, составило 0,26.

Снижение абсолютного риска (absolute risk reduction, ARR): разница между вероятностью развития пневмонии в группе «К» по сравнению с группой «Д» составила 0,32.

Снижение относительного риска (relative risk reduction, RRR): способ измерения эффекта, основанный на сравнении вероятности развития пневмонии в группе «Д» по сравнению с группой «К», составило 0,44. Число больных, которых необхо-

димо лечить (number needed to treat — NNT): способ выражения эффекта, основанный на расчете количества пациентов, которых необходимо пролечить для предотвращения развития пневмонии, составило 3,13.

За время лечения в стационаре умерло 4 пациента из группы «Д» и 16 пациентов из группы «К» (10,8% vs. 40,0%; $p = 0,004$). OR = 0,18; ARR = 0,29; RRR = 0,73; NNT = 3,43.

Среднее количество суток, проведенных пациентами группы «Д» и «К» в стационаре, составило 57,97 и 75,6 соответственно. Среднее количество проведенных пациентами группы «Д» и «К» в отделении реанимации и интенсивной терапии составило 33,05 и 51,65 соответственно. Средние расходы на системную антибактериальную терапию в группе «Д» на 1 пациента составили 97 160,40 руб. В то же время средние расходы на системную антибактериальную терапию в группе «К» на 1 пациента составили 118 014,37 руб. Средневзвешенные цены на лекарственные препараты были взяты единовременно с сайта НордФармИнфо [1].

Стоимость 1 суток пребывания в ожоговом отделении без учета затрат на системную антимикробную терапию составила 2547,81 руб., стоимость 1 суток пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии без учета затрат на системную антимикробную терапию — 10 250,73 руб.

Прямые затраты рассчитывались как сумма фактических затрат на системную антимикробную терапию, расходов на пребывание в отделении реанимации и интенсивной терапии и в ожоговом отделении (табл. 4).

Таблица 4

Прямые затраты в группах

Группа	Общие прямые затраты в группе, руб.	Прямые затраты на 1 пациента, руб.	Прямые затраты из расчета на 100 пациентов, руб.
Группа «Д»	18 480 658,36	499 477,25	49 947 725,31
Группа «К»	28 339 385,14	708 484,63	70 848 462,86

Для оценки затрат использовался анализ «затраты — эффективность» (СЕА). Была рассчитана стоимость прямых затрат на 100 человек в каждой группе. В качестве параметра эффективности использовано количество спасенных пациентов из расчета на 100 пациентов в каждой группе.

Был произведен расчет коэффициента затратной эффективности Keff (отношение стоимости к эффективности):

$$K_{eff} = \text{Cost} : \text{Eff}$$

$$K(\text{Контроль})_{eff} = 70\,848\,462,86 : 60 = 1\,180\,801,71;$$

$$K(\text{Дезэскалация})_{eff} = 49\,947\,725,31 : 89 = 561\,210,40.$$

Коэффициент затратной эффективности контрольной группы оказался больше, чем в группе дезэскалации, поэтому был сделан вывод, что применение стандартного метода лечения связано с

большими материальными затратами, нежели дезэскалационная стратегия.

Результат анализа «затраты — эффективность»: дезэскалационная стратегия антимикробной терапии способна спасти на 29 пациентов из 100 больше, чем традиционная схема антимикробной терапии, при этом данный подход более экономичен.

Заключение

Применение дезэскалационного режима антимикробной терапии статистически достоверно снижает вероятность развития нозокомиальной пневмонии — основной причины смерти у пациентов с тяжелой термической травмой. Наряду с этим, данный подход к антимикробной терапии статистически снижает летальность у пациентов с инфекционными осложнениями термических ожогов.

По данным фармакоэкономического анализа, было доказано снижение прямых затрат на лечение при применении дезэскалационного подхода к антимикробной терапии у пациентов с инфекционными осложнениями тяжелой ожоговой травмы по сравнению со стандартной тактикой.

Литература

1. НордФармИнфо — URL: <http://www.sf.ru> (дата обращения 27.02.2012).
2. Федеральная служба государственной статистики — URL: http://www.gks.ru/bgd/regl/b10_106/Main.htm (дата обращения 27.02.2012).
3. American Burn Association — URL: http://www.ameriburn.org/resources_factsheet.php (дата обращения 27.02.2012).
4. Barret J.P. Socio-economic impact of adult burns in Catalonia / J.P. Barret, I. Solano // Proceedings of the 2nd meeting of the Spanish Burns Association. — 1996. — P. 11–16.
5. Gyurov E. De-escalation therapy: 1-year experience in a general intensive care unit / E. Gyurov [et al.] // Critical Care. — 2005. — V. 9 (Suppl. 1). — P. 24.
6. Haberal M. Is sepsis still a problem in burns? / M. Haberal [et al.] // Annals of the MBC. — 1990. — V. 3. — P. 35–36.
7. Harrington D.T. Burn Injuries and Burn Care / D.T. Harrington // Medicine & Health/Rhode Island. — 2009. — V. 32, № 5. — P. 179–180.
8. Ibrahim E.H. Experience with a clinical guideline for the treatment of ventilator-associated pneumonia / E.H. Ibrahim [et al.] // Crit Care Med. — V. 29. — P. 1109–1115.
9. Negrini D. International Programme for Resource Use in Critical Care (IPOC) — a methodology and initial results of cost and provision in four European countries / D. Negrini [et al.] // Acta Anaesthesiol Scand. — 2006. — V. 50. — P. 72–79.
10. Patil V. Do burn patients cost more? The intensive care unit costs of burn patients compared with controls matched for length of stay and acuity / V. Patil [et al.] // J. Burn. Care Res. — 2010. — V. 31. — P. 598–602.

11. *Rello J.* The value of routine microbiological investigation in ventilator-associated pneumonia / J. Rello [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 1997. — V. 156. — P. 196–200.
12. *Sahin I.* Cost analysis of acute burn patients treated in a burn centre: the Gulhane experience / I. Sahin [et al.] // *Ann Burns Fire Disasters.* — 2011. — V. 24 (1). — P. 9–13.
13. *Shirani K.Z.* The influence of inhalation injury and pneumonia on burn mortality / K.Z. Shirani, B.A. Pruitt, A.D. Mason // *Ann Surg.* — 1987. — V. 205 (1). — P. 82–87.
14. *Singh N.* Short course empiric antibiotic therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia / N. Singh [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 2000. — V. 162. — P. 505–511.
15. *StatPages.org* — URL: www.statpages.org (дата обращения 27.02.2012).
16. *Wilson S.E.* Does initial choice of antimicrobial therapy affect length of stay for patients with complicated intra-abdominal infections? / Wilson S.E. [et al.] // *Am. Surg.* — 2005. — V. 71 (10). — P. 816–820.