

© З.С. Науменко, Л.В. Розова, 2003

К видовому составу анаэробной и аэробной микрофлоры остеомиелитического очага

З.С. Науменко, Л.В. Розова

Specific composition of the anaerobic and aerobic microflora in osteomyelitic focus

Z.S. Naoumenko, L.V. Rozova

Государственное учреждение науки

Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова, г. Курган
(генеральный директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

С использованием анаэробных и аэробных методов выделения и культивирования микроорганизмов изучен видовой состав микрофлоры остеомиелитического очага у больных хроническим посттравматическим остеомиелитом. Показано, что анаэробные микроорганизмы выделены у 62,5 % обследованных больных. Анаэробная микрофлора была представлена как неспорообразующими бактериями (*Bacteroides*, *Veillonella*, *Gemella*, *Actinomyces*), так и спорообразующими палочками рода *Clostridium*. Аэробная и факультативно-анаэробная микрофлора включала 18 видов грамположительных и грамотрицательных палочек и кокков.

Ключевые слова: остеомиелитический очаг, микрофлора, неспорообразующие анаэробы, клостридии, аэробные бактерии.

Specific composition of the microflora in osteomyelitic focus of patients with chronic posttraumatic osteomyelitis was studied using anaerobic and aerobic techniques for microorganism isolation and culturing. It was demonstrated that anaerobic microorganisms were isolated in 62,5% of patients studied. The anaerobic microflora was shown both as non-spore-forming bacteria (*Bacteroides*, *Veillonella*, *Gemella*, *Actinomyces*) and as spore-forming bacilli of *Clostridium* type. The aerobic and optionally anaerobic microflora included gram-positive and gram-negative bacilli and cocci of 18 species.

Keywords: osteomyelitic focus, microflora, non-spore-forming anaerobes, *Clostridium*, aerobic bacteria.

ВВЕДЕНИЕ

Облигатные анаэробные микроорганизмы принимают участие в развитии большинства гнойно-воспалительных процессов, в том числе при остеомиелите [1, 9]. Значительную роль играют неспорообразующие анаэробные (НА) микроорганизмы при инфекциях мягких тканей [3]. Как правило, НА инфекции имеют эндогенное происхождение, т.е. вызываются условно-патогенными микроорганизмами, подавляющее большинство которых — представители нормальной микрофлоры организма человека, доминирующее положение среди которых принадлежит анаэробным бактериям. Так, в ротовой полости соотношение анаэробов и аэробов составляет 10:1, в женских половых органах — 100:1, в толстом кишечнике 1000:1 [2].

Диагностика неспорообразующих анаэробов сложна и трудоемка, требует дорогостоящей техники, специальных питательных сред и соот-

ветствующей подготовки персонала. Это приводит к тому, что микробиологическая диагностика НА инфекций, с учетом выделения бактерий-анаэробов, в большинстве медицинских учреждений практически не налажена. Из-за этого недооценивается роль неклостридиальной инфекции, которая, будучи нераспознанной и нелеченной, приводит к затяжному течению или генерализации процесса, к ошибкам в этиологической диагностике, что сказывается на качестве лечения больных и составляет проблему госпитальных инфекций. Как для бактериологов, так и для клиницистов проблема борьбы с НА инфекцией — одна из наименее изученных.

Целью настоящего исследования явилось выявление видового состава анаэробных и аэробных микроорганизмов остеомиелитического очага.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В течение 2001 г. обследовано 16 больных с посттравматическим хроническим остеомиелитом, лечившихся в отделении гнойной ортопедии РНЦ «ВТО». Возраст больных составлял от 19 до 49 лет. Было обследовано 22 пробы гнойного отделяемого ран и свищей, некротизированных участков мягких тканей и одна проба костного фрагмента. Материал для исследования доставлялся в лабораторию в течение 30 мин. после взятия образца с соблюдением условий анаэробии. В качестве транспортной использовали среду «КСК – 199». Доставленный материал в лаборатории исследовался микроскопическими и культуральными методами, обеспечивающими выращивание как аэробной, так и анаэробной микрофлоры. Изучение морфологических особенностей микроорганизмов в

материале от больных проводили с использованием световой микроскопии (микроскоп МБИ-15). Культуральные особенности изучали с помощью стереоскопического микроскопа (МБС-1). Выделение и идентификацию аэробных и факультативно-анаэробных бактерий проводили в соответствии с общепринятыми методиками [7]. Анаэробные бактериальные культуры выделяли согласно руководству [5], при этом анаэробные условия для культивирования посевов создавали с помощью микроанаэростана «GENBAG – GENBOX anaer» фирмы «bioMérieux» (Франция). Идентификацию выделенных штаммов осуществляли с использованием автоматического бактериологического анализатора «АТВ Expression» той же фирмы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При микробиологическом обследовании больных хроническим посттравматическим остеомиелитом с использованием как традиционных методов аэробного культивирования, так и анаэробной техники было выделено 65 клинических штаммов бактерий.

Использование анаэробной техники и методов культивирования позволило выявить строгие анаэробы в 59,1 % изученных проб. Анаэробные микроорганизмы найдены у 10 больных из 16 обследованных, что составило 62,5%. По полученным результатам, анаэробы были представлены грамотрицательными палочками и кокками (роды *Bacteroides*, *Veillonella*), грамположительными кокками (род *Gemella*), грамположительными палочками, не образующими спор (род *Actinomyces*) и грамположительными споровыми палочками (род *Clostridium*) (табл. 1).

Наиболее часто из остеомиелитического очага выделялись бактероиды (47 % случаев). Судя по имеющимся литературным данным, эти анаэробы – обычные возбудители гнойно-воспалительных заболеваний различной локализации [3, 6]. В работе Колкер и Борисовой по исследованию микрофлоры гнойных ран приводятся сведения о том, что основными представителями НА как в монокультуре, так и в ассоциациях являлись бактерии рода *Bacteroides*, которые обнаруживались у 69,8 % больных [3].

Заслуживает внимания факт обнаружения гемелл (*G. morbillorum*) в гнойном отделяемом и мягких тканях у 18,8 % обследованных больных. Бактерии рода *Gemella* выделены в ранг самостоятельного рода относительно недавно. В справочной литературе по бактериологии информация о гемеллах скудна и нередко указывается, что эти бактерии не имеют медицинского значения. Однако в последние годы появились

сообщения о выделении гемелл при остеомиелитах и артритах в разных странах мира [10, 11]. В связи с этим, роль гемелл в этиологии гнойно-воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата требует дальнейшего всестороннего изучения.

Кроме перечисленных выше НА у 2 больных было выделено по одному штамму *Actinomyces* и *Veillonella*. Известно, что как вейллонеллы, так и актиномицеты самостоятельно обычно не вызывают развития патологических процессов, но могут входить в состав смешанных групп патогенов либо вызывать вторичные инфекции (абсцессы мягких тканей), раневые инфекции и септические состояния) при иммунодефицитных состояниях [4], которые характерны для больных хроническим остеомиелитом.

Спорообразующие анаэробные бактерии рода *Clostridium* были выделены у 4 пациентов из 16. Следует отметить, что в отличие от НА инфекций, клостридиозы, как правило, имеют экзогенное происхождение.

Характерной особенностью микрофлоры остеомиелитического очага у обследованных больных являлась многокомпонентность микробных ассоциаций. Ни в одной из исследованных проб анаэробы не были обнаружены без ассоциативной аэробной микрофлоры. Таким образом, у всех больных инфекционный процесс носил смешанный аэробно-анаэробный характер. Многокомпонентность микробных ассоциаций обусловлена в большей мере разнообразием видов аэробной микрофлоры, чем анаэробной. Как правило, НА в микробной ассоциации были представлены 1-2 видами, и лишь у одного больного выделено 3 вида.

Изученная аэробная и факультативно-анаэробная микрофлора остеомиелитического

очага представлена 18 таксонами (табл. 2). Всего было выделено 48 штаммов. По морфологии это были грамположительные и грамотрицательные палочки и кокки.

Использование автоматической системы идентификации "АТВ Expression" позволило выявить наряду с традиционно выделяемыми при хроническом остеомиелите *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* трудно диагностируемые виды стафилококков: *S. intermedius*, *S. xylosus*, *S. chromogenes*. Последние 3 вида имеют ряд физиологических отличий от вышеназванных, а также специфическую антибиотикограмму. Наряду со стафилококками у 3 больных были выделены стрептококки. Другие изученные аэробные грамположительные бактерии относились к родам *Bacillus* и *Corynebacterium*.

Аналогично результатам предыдущих исследований [8], среди выделенных аэробных грамотрицательных бактерий преобладали синегнойная палочка (12,5 %) и протей (8,3%). Вместе с тем значительно возрос удельный вес

Serratia marcescens (6,2%). Сerratии ранее считали непатогенными, позднее их стали выделять при госпитальных бактериемиях и пневмониях, септических артритах, эндокардитах и остеомиелитах. Важной особенностью сerratий, как и синегнойной палочки, является способность бактерий к горизонтальной передаче через руки медицинского персонала.

Таким образом, у 62,5% обследованных больных хроническим посттравматическим остеомиелитом были обнаружены анаэробные микроорганизмы, среди которых преобладали бактероиды. Основной особенностью гнойно-воспалительных процессов в остеомиелитическом очаге с участием неспорообразующих анаэробов является их полимикробный характер, обусловленный как анаэробными, так и аэробными микроорганизмами. Выделение и идентификация неспорообразующих анаэробов осуществлены в РНЦ «ВТО» впервые; полученные результаты послужат основой для дальнейших исследований.

Таблица 1.

Видовой состав анаэробной микрофлоры, выделенной у больных хроническим остеомиелитом

Морфология микроорганизмов	№	Вид анаэробных микроорганизмов	Количество выделенных штаммов	
			абс.	%
Грамотрицательные палочки	1	<i>Bacteroides capillosus</i>	1	5,9
	2	<i>Bacteroides ureolyticus</i>	7	41,1
Грамотрицательные кокки	3	<i>Veillonella</i> sp.	1	5,9
Грамположительные кокки	4	<i>Gemella morbillorum</i>	3	17,6
Грамположительные палочки неспоровые	5	<i>Actinomyces</i> sp.	1	5,9
Грамположительные спорообразующие палочки	6	<i>Clostridium perfringens</i>	2	11,8
	7	<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	1	5,9
	8	<i>Clostridium</i> sp.	1	5,9
Всего			17	100

Таблица 2.

Видовой состав аэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры, выделенной у больных хроническим остеомиелитом

Морфология микроорганизмов	№	Вид анаэробных микроорганизмов	Количество выделенных штаммов	
			абс.	%
Грамотрицательные палочки	1	<i>Burkholderia cepacia</i>	1	2,1
	2	<i>Escherichia coli</i>	1	2,1
	3	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	2,1
	4	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	2,1
	5	<i>Klebsiella</i> sp.	1	2,1
	6	<i>Proteus mirabilis</i>	3	6,2
	7	<i>Proteus vulgaris</i>	1	2,1
	8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	12,5
	9	<i>Serratia marcescens</i>	3	6,2
Грамположительные кокки	10	<i>Staphylococcus aureus</i>	13	27,0
	11	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	10,4
	12	<i>Staphylococcus intermedius</i>	2	4,2
	13	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	2,1
	14	<i>Staphylococcus xylosus</i>	1	2,1
	15	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	1	2,1
	16	<i>Streptococcus haemolysans</i>	3	6,2
Грамположительные неправильные палочки	17	<i>Corynebacterium</i> spp.	2	4,2
Споровые грамположительные палочки	18	<i>Bacillus</i> spp.	2	4,2
Всего			48	100

ЛИТЕРАТУРА

1. Батрак Ю.М., Коломиец А.А., Зайцев В.Н. Гнойная инфекция в травматологии и ортопедии // Анналы травматологии и ортопедии. – 1996. – № 4. – С. 43-47.
2. Состояние проблемы инфекций, вызываемых неспорообразующими анаэробными бактериями / А.А. Воробьев, А.Ю. Миронов,

- Е.П. Пашков и др // Вестн. РАМН. – 1996. - № 2. – С. 3-8.
3. Колкер И.И., Борисова О.К. Микробиологические аспекты неклостридиальной анаэробной инфекции // Раны и раневая инфекция / Под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченко. – М.: Медицина, 1990. – С. 161-166.
 4. Медицинская микробиология /Под ред. В.И. Покровского, О.К. Поздеева. – М.: ГЕОТАР МЕДИЦИНА, 1998. – 1200 с.
 5. Методические рекомендации по микробиологической диагностике раневых инфекций в лечебно-диагностических учреждениях армии и флота / М-во обороны РФ. Главное военно-мед. управление; Сост.: В.М. Добрынин, И.А. Добрынина, В.В. Кацалуха и др. - СПб., 1999. – С. 4-62.
 6. Окропиридзе Г.Г., Савостьянова О.В., Пхакадзе Т.Я. Патология костей: микробиология гнойно-септических осложнений // Бюлл. Восточно-Сибирского науч. центра СО РАМН. – 2000. – №2 (12). – С. 50-51.
 7. Приказ N 535 МЗ СССР Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений. – М., 1985. – 126 с.
 8. Розова Л.В., Аранович А.М., Ключин Н.М. Протеус-инфекция у больных хроническим остеомиелитом // Гений ортопедии. – 1997. – № 2. – С. 73-74.
 9. Carek P.J., Dickerson L.M., Sack J.L. Diagnosis and management of osteomyelitis // Am. Fam. Physician. – 2001. – Vol. 63, No 12. – P. 2413-2420.
 10. Pyogenic vertebral osteomyelitis caused by *Gemella haemolysans* / Y. Nonaka, C. Kiyofuji, Y. Takano, K. Ito // Nippon. Naika. Gakkai. Zasshi. - 2000. – Vol. 89, No 5. – P. 980-982.
 11. Trochanter osteomyelitis and ipsilateral arthritis due to *Gemella morbillorum* / M. van Dijk, B.J. van Royen, P.I. Wuisman et al. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 1999. - Vol. 18, No 8. – P. 600-602.

Рукопись поступила 15.01.02.