

## Změna bakteriálního spektra na ranných plochách u těžce popálených pacientů

Lipový B.<sup>1</sup>, Řihová H.<sup>1</sup>, Hanslianová M.<sup>2</sup>, Burgetová D.<sup>2</sup>, Kaloudová Y.<sup>1</sup>, Suchánek I.<sup>1</sup>, Brychta P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno

<sup>2</sup>Oddělení klinické mikrobiologie FN Brno

### Souhrn

**Cíl studie:** Stanovit časovou osu nárůstu gramnegativních kmenů bakterií na popálených plochách v průběhu hospitalizace.

**Typ studie:** Retrospektivní

**Materiál a metodika:** Do studie bylo zahrnuto 85 pacientů hospitalizovaných na Klinice popálenin a rekonstrukční chirurgie v letech 2006-2008. Základní předpoklady pro zařazení do studie byly: popálení na více než 15 % TBSA [total body surface area], délka hospitalizace minimálně 1 měsíc, věk nad 18 let. U pacientů byl odebírán materiál na mikrobiologické vyšetření 2., 6., 10., 14. a 20. den po přijetí.

**Výsledky:** Celkem bylo u skupiny pacientů izolováno 777 bakteriálních kmenů, z toho 64,6 % spadalo do grampozitivního spektra a 35,4 % do spektra gramnegativních kmenů. Nejčastěji izolovanými grampozitivními patogeny jsou *Staphylococcus koagulasa negativní* [izolováno 260 kmenů], *Bacillus* sp. [113 kmenů], v gramnegativním spektru *Pseudomonas aeruginosa* [81 kmenů], *Escherichia coli* [63 kmenů] a komplex *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii* [57 kmenů].

**Závěr:** Ve studii se nám podařilo získat data, která potvrzují teoretický předpoklad o nárůstu počtu gramnegativních kmenů na popálených plochách v průběhu hospitalizace. Ovšem ani 20. den po přijetí k hospitalizaci nejsou tyto kmeny dominantní.

**Klíčová slova:** popáleniny – ranná plocha – grampozitivní bakterie – gramnegativní bakterie.

### Summary

**Lipový B., Řihová H., Hanslianová M., Burgetová D., Kaloudová Y., Suchánek I., Brychta P.: Changes in the Bacterial Spectrum in Severe Burn Wounds**

**Study objective:** To determine the time axis for increase in Gram negative bacterial strains in burn wounds during hospitalization.

**Study type:** Retrospective

**Material and Methods:** Eighty-five patients hospitalized at the Clinic of burns and reconstructive surgery between 2006 and 2008 were enrolled in the study. The major criteria for enrolment were more than 15 % of total body surface area (TBSA) burned, hospital stay of 1 month or more and age over 18 years. Specimens for microbiological examination were collected on days 2, 6, 10, 14 and 20 after admission.

**Results:** A total of 777 bacterial strains were isolated from the study patients, with 64.6 % of these strains being Gram positive and 35.4 % Gram negative. The most frequently isolated Gram positive pathogens were coagulase-negative *Staphylococcus* (260 strains) and *Bacillus* sp. (113 strains), while the most common Gram negative pathogens were *Pseudomonas aeruginosa* (81 strains), *Escherichia coli* (63 strains) and *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii* complex (57 strains).

**Conclusion:** The study provided data that supports the assumption of increase in Gram negative bacterial strains in burn wounds during hospitalization. Nevertheless, even on day 20 after admission, such strains did not predominate.

**Key words:** burns – burn wound area – Gram positive bacteria – Gram negative bacteria.

## Úvod

Infekce ranných ploch patří v každém chirurgickém oboru, popáleniny nevyjímaje, k závažným komplikacím, které prodlužují dobu hospitalizace a vždy zhoršují prognózu pacienta [1, 2]. Popáleninové trauma představuje velmi specifický patogenetický mechanismus, který široce otevírá pacientův organismus invazi mikroorganismů [3]. Proto včasná diagnostika, důsledné určení původce infekce a adekvátní antibiotická terapie jsou jedním ze základních pilířů moderního managementu komplexní péče o těžce popálené pacienty [4].

Z literatury je známo, že v průběhu hospitalizace dochází k nárůstu počtu gramnegativních bakterií izolovaných na popálených plochách [5]. Cílem této studie bylo stanovit časovou osu konverze grampozitivních bakterií na bakterie gramnegativního spektra, objasnit hlavní bakteriální patogeny způsobující infekci popálených ploch a jejich stratifikaci v průběhu hospitalizace.

Každá plocha je bezprostředně po popáleninovém traumatu sterilní, protože bakterie, které spadají do normální kožní flóry, jsou přibližně stejně rezistentní k termickému inzultu jako keratinocyty a další buňky formující epidermis, či hlubší vrstvy buněk kůže [6]. Tepelnou destrukci kůže mohou přežít zejména grampozitivní bakterie, které se ukrývají hluboko ve vlasových folikulech a mazových žlázách. Ty poté kolonizují popálenou plochu většinou do 48 hodin od úrazu. S prodlužující se dobou hospitalizace se toto osídlení grampozitivní flórou postupně změní na infekci ploch gramnegativní flórou. Nekrotická kůže a podkožní struktury představují pro bakterie „excelentní“ růstové médium [7]. Navíc se u pacientů s rozsáhlým popáleninovým traumatem, tj. rozsahem popálení nad 20 % přidává výraznější imunosuprese postižených, což opět zvyšuje pravděpodobnost infekce a často také urychluje eventuální konverzi grampozitivní flóry na flóru gramnegativní [8]. Proto je v dnešní době hlavní součástí péče o popálené plochy časná a agresivní nekrektomie spolu s tendencí k co nejrychlejšímu uzavření vzniklých defektů, tj. k autotransplantaci dermoepidermálními štěpy.

## Materiál a metodika

V této studii byla retrospektivně sledována bakteriologická situace na popálených plochách u pacientů přijatých se závažným popáleninovým traumatem na JIP Kliniky popálenin a rekonstrukční chirurgie. Celkem bylo za období 2006-2008 na JIP přijato 254 pacientů. Pacienti mladší než 18 let, pacienti s rozsahem popálené plochy menší než 15 % TBSA (total

body surface area) nebo pacienti hospitalizovaní kratší dobu než jeden měsíc, byli ze studie vyřazeni. Celkový počet pacientů, vybraných podle výše zmíněných kritérií, byl 85. Průměrný věk pacientů v souboru byl 42 let (18-67 let), průměrný rozsah popálené plochy u pacientů v souboru byl 30,8 % TBSA (15-82 % TBSA). Průměrná délka hospitalizace byla téměř 49 dní [30-149 dní]. Poměr pohlaví pacientů v souboru byl 19 žen a 66 mužů. U pacientů zařazených do souboru bylo kontinuálně sledováno bakteriologické spektrum na popálených plochách, a to 2., 6., 10., 14. a 20. den od začátku hospitalizace. Výsledky kultivací byly poté hodnoceny. Na našem pracovišti se odebírají otisky a stěry ke kultivaci obden v době převazu. Vždy se odebírá série stěrů z ploch různé lokalizace, aby se maximalizovalo procento zachytu bakterií. U skupiny pacientů zařazených do studie nedocházelo již po 20.dni hospitalizace ke změnám ve spektru bakteriálního osídlení.

**Stěry z popálených ploch:** sterilním vatovým tamponem zanořeným následně do transportní půdy (AMIES). Po transportu do mikrobiologické laboratoře vyočkován na kultivační půdy- krevní agar, McConkey agar (selektivní agar pro gramnegativní mikroby), krevní agar s přidávkou NaCl (selektivní agar pro stafylokoky) a VL agar (kultivace anaerobně rostoucích mikrobů). Nelze hodnotit kvantitu. Výhoda anaerobní kultivace, ale u popáleninového traumatu nepatří anaerobní mikroby ke stěžejním původcům infekce popálených ploch.

**Otisky z popálených ploch:** přiložením proužků sterilního filtračního papíru na popálenou plochu a jejich přenesením na kultivační půdy - krevní agar, McConkey agar, URiselect [chromogenní kultivační půda pro zachyt gramnegativních i grampozitivních mikrobů s barevným odlišením růstu]. Jedná se o semikvantitativní metodu, která již umožňuje kvantitativní sledování mikrobiálního osídlení ranné plochy, jeho změny v čase a tím i účinnosti léčby.

Půdy kultivujeme 18-24 hodin při teplotě 35-37 °C, krevní agar v atmosféře se zvýšenou tenzí CO<sub>2</sub>, VL agar v anaerobní atmosféře, ostatní půdy v běžné atmosféře. Při negativním kultivačním nálezu za 24 hodin prodlužujeme kultivaci na 48-72 hodin.

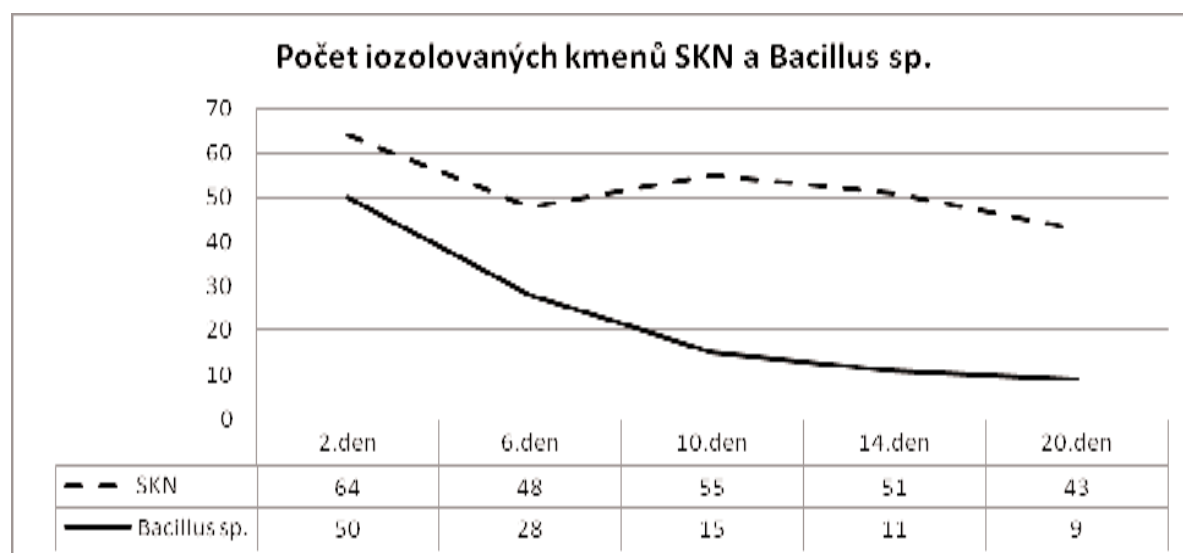
Identifikace mikroorganismů: pomocí komerčně vyráběných souprav ENTEROtest 24 Lachema, STAPHYtest 24 Lachema, BBL crystal Becton Dickinson, API BioMerieux.

## Výsledky

Ve sledovaném období bylo u 85 pacientů v souboru izolováno celkem 777 bakteriálních kmenů. 502 kmenů spadalo do grampozitivního spektra bakterií (tj.64,6 %), 275 kmenů poté připadlo na gramnegativní bakterie (tj.35,4 %). Nejčastějším izolovaným patogenem na popálených plochách byl *Staphylococcus koagulasa negativní* (celkem izolováno 260 kmenů), následovaný *Bacillus sp.* (113 kmenů) (Graf 1). Oba tyto bakteriální rody mají sice nízký patogenní potenciál, ovšem ve spojení s popáleninovým traumatem mohou být příčinou vážných infekčních komplikací. Nejčastější gramnegativní kmeny vykultivované z popálených ploch byly *Pseudomonas aeruginosa* (81 kmenů), *Escherichia coli* (63 kmenů) a komplex *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii* (57 kmenů). Kompletní přehled všech bakterií izolovaných na popálených

**Tab.1.** Počet všech bakteriálních kmenů zachycených na popálených plochách v našem souboru pacientů**Table 1.** Bacterial strains detected from burn wounds of 85 patients in 2006-2008

Bakterie izolované na popálených plochách 2006-2008				
	2006	2007	2008	Celkem
<i>Staphylococcus koagulasa negat.</i>	71	88	101	<b>260</b>
<i>Bacillus sp.</i>	31	30	52	<b>113</b>
<i>Enterococcus faecalis</i>	20	22	23	<b>65</b>
<i>Enterococcus faecium</i>	0	10	1	<b>11</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	16	15	<b>43</b>
<i>Acinetobacter calcoaceticus - baumannii</i>	36	17	4	<b>57</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	23	35	<b>81</b>
<i>Escherichia coli</i>	20	25	18	<b>63</b>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	15	1	<b>28</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	10	10	8	<b>28</b>
<i>Enterobacter sakazakii</i>	0	0	2	<b>2</b>
<i>Streptococcus alfa haemolyticus</i>	4	4	2	<b>10</b>
<i>Proteus mirabilis</i>	3	5	0	<b>8</b>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	1	3	<b>4</b>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1	1	<b>3</b>
<i>Acinetobacter lwofii</i>	0	0	1	<b>1</b>

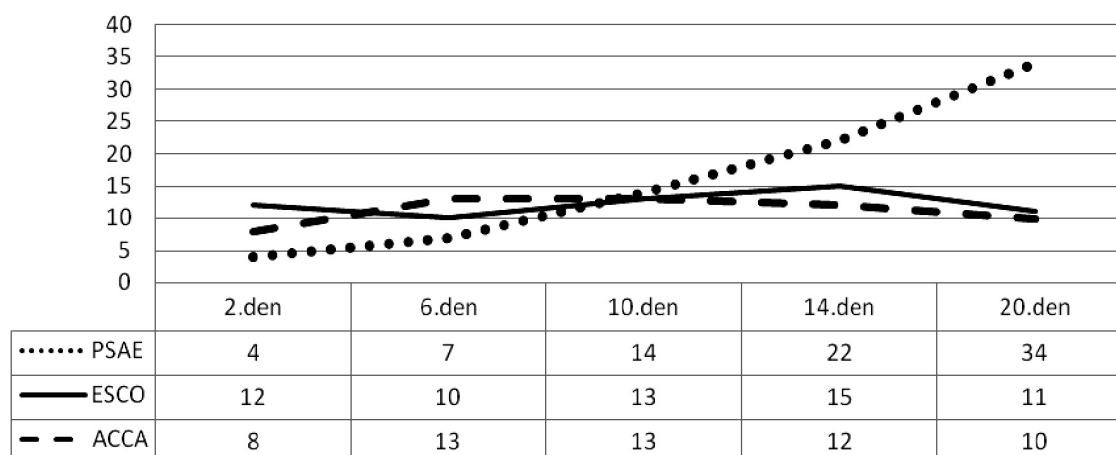
**Graf 1.** Nejčastěji zachycené G+ kmeny [SKN - *Staphylococcus koagulasa* negativní]**Fig. 1.** The most frequently detected G+ strains SKN - coagulase-negative *Staphylococcus*

plochách u skupiny pacientů je prezentován v (tab. 1). Po celou sledovanou dobu dochází k navyšování poměru záchytu ve prospěch gramnegativních bakterií, ovšem toto spektrum bakterií v žádném ze sledovaných období nepřesáhne počet záchytu bakterií grampozitivního spektra. Získaná data lze interpretovat jako kontinuální navyšování záchytu gramnegativních bakterií, nikoliv navyšování s detekcí jednoznačného bodu akcelerace (graf 1).

*Staphylococcus koagulasa negativní* bakterie si po celou sledovanou dobu udržují přibližně stejnou frekvenci záchytu. Jinak je to ovšem u *Bacillus sp.*, kdy frekvence záchytu spolu s narůstající

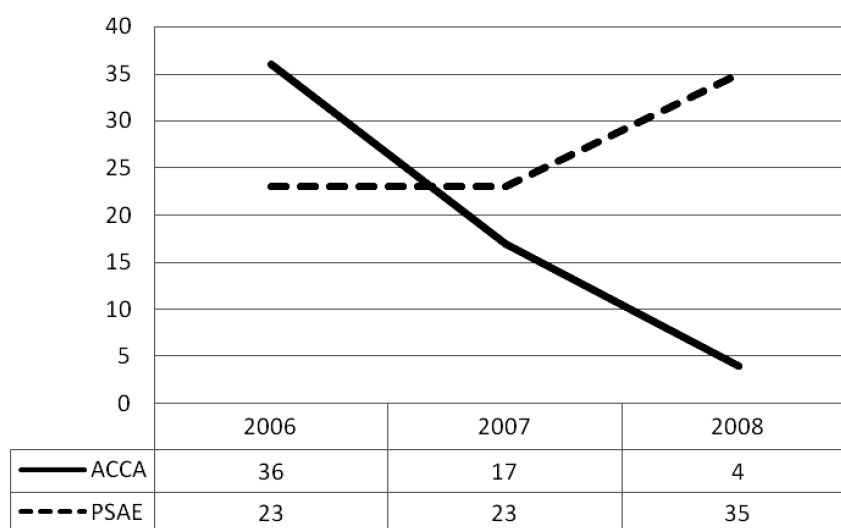
dobou hospitalizace klesá. U gramnegativních kmenů je situace rovněž velmi zajímavá. Frekvence záchytu *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* a *Escherichia coli* je po dobu hospitalizace přibližně stejná. U *Pseudomonas aeruginosa* dochází během hospitalizace k předpokládanému nárůstu počtu zachycených kmenů (graf 2). Na naší klinice jsme zaznamenali ve sledovaném období, tj. 2006-2008 pokles počtu vykultivovaných kmenů *Acinetobacter calcoaceticus - baumannii* na popálených plochách, což se projevilo také v našem souboru pacientů. Naopak zejména v roce 2008 jsme zaznamenali nárůst počtu kme-

## Počet izolovaných kmenů ESCO, PSAE a ACCA



**Graf 2.** Nejčastěji vykultivované G- kmeny [PSAE – *Pseudomonas aeruginosa*, ESCO – *Escherichia coli*, ACCA - *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii*]

**Fig. 2.** The most frequently detected G- strains; PSAE – *Pseudomonas aeruginosa*, ESCO – *Escherichia coli*, ACCA - *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii*



**Graf 3.** Počet vykultivovaných kmenů *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii* [ACCA] a *Pseudomonas aeruginosa* [PSAE] na popálených plochách za sledované období 2006-2008

**Fig. 3.** Numbers of *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* strains detected from burn wounds in 2006-2008; ACCA - *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii*, PSAE – *Pseudomonas aeruginosa*

**Tab. 2.** Poměr G+ a G- bakterií v jednotlivých sledovaných obdobích v %

	2. den	6. den	10. den	14. den	20. den
G+ [%]	78	68	63	57	51
G - [%]	22	32	37	43	49

nů *Pseudomonas aeruginosa* nejen na popálených plochách, opět verifikováno v našem souboru (graf 3). U *Escherichie coli* je frekvence záchyty od roku 2006-2008 přibližně stejná.

### Diskuse

Pokud bychom si stanovili jako cíl konverze dobu, kdy na popálených plochách bude procen-

tuálně převaha gramnegativních kmenů nad gram pozitivními, tak této mety nedosáhneme v žádném ze sledovaných období. Důvodů je hned několik. Antibiotická profylaxe ihned od přijetí u závažných popálenin (Kotrimoxazol, Amoxicilin/Klavulanová kyselina) podpořená precizním monitorováním mikrobiologické situace nejen na popálených plochách. Akcentace směrem k časné nekrektomii a uzávěru vzniklého defektu. 20. den po přijetí má již většina pacientů defekty zatransplantovány dermoepidermálními štěpy, které jsou obvykle přihojeny. Na našem pracovišti je velice pozitivním faktem snižování výskytu kmenů *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*, protože právě tento mnohdy multi-rezistentní patogen představuje vysoké riziko pro pacienty s vážným popáleninovým traumatem [9,10,11,12]. Guggenheim at al. ve své studii hodnotili změnu bakterií izolovaných na popálených plochách a jejich rezistenci k antibiotikům za období 1986-2005. Nejčastěji izolovaným bakteriálním patogenem z popálených ploch byl *Staphylococcus aureus*, následovaný *Escherichia coli* [13].

Popálená plocha je bezprostředně po inzultu sterilní, ale velmi rychle se kolonizuje, zpočátku gram pozitivními bakteriemi, které se po určité době doplňují nárůstem gramnegativních kmenů. Ale vzhledem k dnešním moderním sofistikovaným postupům časné nekrektomie a uzávěru vzniklého defektu, včetně precizní mikrobiologické kontroly, jsou plochy v době, kdy by převažovala gramnegativní flóra, již mnohdy uzavřeny dermoepidermálním štěpem. Z tohoto důvodu není ani v časovém pásmu okolo 20 dní od přijetí k hospitalizaci převaha gramnegativních bakterií, které by se daly teoreticky předpokládat.

Kontinuální sledování mikrobiologického spektra nejen na popálených plochách dnes představuje základ v moderní péči o těžce popálené pacienty. Včasná detekce patogenu a okamžitá reakce na změnu bakteriálního spektra změnou antibiotik by měla být naprostou samozřejmostí v každém popáleninovém centru [14].

## Závěr

Ve studii se podařilo prostřednictvím získaných dat prokázat narůstající tendenci izolovaných gramnegativních bakterií na popálených plochách. Gramnegativní bakterie ovšem v žádném časovém intervalu měřeného souboru nedominovaly. Je to způsobeno zejména moderním přístu-

pem k péči o popálené plochy, časnou nekrektomií a uzávěrem vzniklých defektů.

## Literatura

1. **Van Saene, H. K. F.** Infection Control in the Intensive Care Unit 2nd Edition. Milan: Springer, 2005, 379-415.
2. **Šrámová, H. a kol.** Nozokomiální nákazy II. Praha: Maxdorf, 2001, 113-124.
3. **Kolář, M.** Infekce u kriticky nemocných. Praha: Galén, 2008, 261-266.
4. **Königová, R. et al.** Komplexní léčba popálenin. Praha: Grada, 1999, 285-299.
5. **Erol, S., Altoparlak, U., Akcay, M. N., Celebi, F., Parlak, M.** Changes of microbial flora and wound colonization in burned patients. Burns, Vol. 30, Issue 4, June 2004, 357-361.
6. **Herndon, D. N.** Total Burn Care 3rd Edition. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007, 136-177.
7. **Pospíšilová, A., Franců, M.** Akutní a chronické rány – etiologie, rozdíly v hojení a léčba. Čes-slov Derm, 2008, 83, No. 5, 232-245.
8. **Teodorczyk-Injeyan, J. A., Sparkes, B. G., Mills, G. B., Peters, W. J.** Immunosuppression follows systemic T lymphocyte activation in the burn patient. Clin Exp Immunol, 1991, 85[3], 515-518.
9. **Babík, J., Bodnárová, L., Sopko, K.** Acinetobacter - serious danger for burn patients. Acta Chir Plast, 2008, 50[1], 27-32.
10. **Albrecht, M. C., Griffith, M. E., Murray, C. K., Chung, K. K., Horvath, E. E., Ward, J. A., Hospenthal, D. R., Holcomb, J. B., Wolf S. E.** Impact of Acinetobacter infection on the mortality of burn patients. J Am Coll Surg, 2006, 203[4], 546-550.
11. **Mese, S., Nergiz, S., Gul, K., Girgin, S.** Microorganisms isolated from burn wounds and their antibiotic susceptibility. J Burn Care Res, 2008, 29[6], 1018.
12. **Trottier, V., Segura, P. G., Namias, N., King, D., Pizano, L. R., Schulman, C. I.** Outcomes of Acinetobacter baumannii infection in critically ill burned patients. J Burn Care Res, 2007, 28[2], 248-254.
13. **Guggenheim, M., Zbinden, R., Handschin, A. E., Gohritz, A., Mehmet, A., Giovanoli, A., Giovanoli, P.** Changes in bacterial isolates from burn wounds and their antibiograms: A 20-year study [1986-2005]. Burns, 2009, 35[4], 553-560.
14. **Svoboda, P., Kantorová, I., Řehořková, D., Scheer, P.** Sepse v traumatologii a chirurgii. Praha: Triton, 2004, 139-143.

Do redakce došlo 21. 5. 2009

MUDr. Břetislav Lipový

Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno

Jihlavská 20.

625 00.Brno

e-mail: b.lipovy@seznam.cz