

С. Б. Ахметова, А. Б. Николаева, Е. Н. Котенева, А. В. Лавриненко, В. А. Феоктистов

КЛИНИЧЕСКИЕ ФОРМЫ И ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА РАНЕВОЙ ПОВЕРХНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Кафедра микробиологии Карагандинского государственного медицинского университета

Целью нашего исследования явилось изучение степени поражения нижних конечностей и микробного пейзажа раневой поверхности у больных с синдромом диабетической стопы (СДС). Возбудителями хронической инфекции у обследуемых пациентов явились представители грамположительной и грамотрицательной флоры с тенденцией преобладания представителей рода *Staphylococcus*. Изучение способности микроорганизмов к формированию биопленочных структур, выделенных от больных, показало незначительную разницу в изучении этой активности между представителями рода *Staphylococcus* и *Escherichia*. Купирование гнойно-воспалительного процесса удалось достичь в 71% случаев, ампутация пораженной конечности потребовалась в 29% случаев, летальных исходов – 7%.

Ключевые слова: синдром диабетической стопы, микробиологический пейзаж, биопленочные структуры, воспалительный процесс

В настоящее время большой интерес представляет изучение развития биопленок в хирургической практике, поскольку они являются виновниками хронических инфекций, тяжело поддающихся терапевтическому воздействию [8]. Микроорганизмы в процессе своей жизнедеятельности продуцируют и выделяют компоненты матрикса, позволяющие существовать им не в виде отдельных клеток, а формировать сообщества, именуемые микробными биопленками, которые являются основной средой обитания микроорганизмов во внешней среде и в организме хозяина [2, 3, 7]. Существовая в виде структурированных образований, микрофлора обладает повышенной резистентностью к антибактериальным препаратам и к факторам антимикробной защиты макроорганизма, что позволяет им выживать под воздействием ряда неблагоприятных факторов и реализовывать свои патогенные свойства. В составе биопленки микробы способны противостоять большим дозам антибиотиков, которые превышают терапевтическую дозу препаратов в сотни раз [6]. Считается, что около 60% инфекционных заболеваний человека, которые характеризуются длительным течением с хронизацией процесса, связаны с формированием биопленочных сообществ [5].

Цель работы – изучение степени поражения нижних конечностей и микробного пейзажа раневой поверхности у больных с синдромом диабетической стопы (СДС).

В задачи исследования входило изучение распространенности различных клинических форм у больных с СДС в хирургическом отделении Городской больницы №1 и Област-

ном медицинском центре г. Караганды, оценивание микробного пейзажа раневой инфекции и количественной оценки способности микроорганизмов формировать биопленочные сообщества.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования явилось раневое отделяемое 27 больных инсулинозависимым сахарным диабетом с СДС в возрасте от 47 до 76 лет, которые находились на лечении в хирургическом отделении городской больницы №1 и Областном медицинском центре. В контрольную группу были включены пациенты с наличием раневого процесса на нижних конечностях без сахарного диабета.

Для характеристики степени тяжести процесса при СДС использовали общепринятую классификацию F. W. Wagner, основанную на различиях степени глубины поражения и проявлении поверхностных изменений раны. Использование системы помогло решить вопросы необходимости госпитализации, выбора дальнейшей тактики местного и системного лечения и необходимости хирургического лечения. Диагноз СДС был выставлен на основании комплексного учета клинических и лабораторных исследований на базе Городской больницы №1 и Областного медицинского центра г. Караганды. В дополнение к основному заболеванию у пациентов регистрировались заболевания сердечно-сосудистой системы (хроническая ишемическая болезнь сердца, инфаркты миокарда в анамнезе, гипертоническая болезнь) в 89,5% наблюдений, цереброваскулярной патологией – в 60,3% случаев, диабетической нефропатией, ретинопатией и

нейропатией – в 64,1%, 85,1% и 88,8% случаях соответственно.

После обработки раны антисептическими растворами осуществляли иссечение участка раневой поверхности. Биоптат растирали в ступке со стерильным физиологическим раствором из расчета 1:10. Готовили десятикратные разведения и осуществляли посев по методу Гоулди на чашки с кровавым питательным агаром с последующим количественным учетом микробной обсемененности [1]. Идентификация микроорганизмов проводилась с использованием MALDI-TOF спектрометрии («Bruker», Германия).

Количественную оценку способности микроорганизмов формировать биопленки проводили с помощью фотометрического метода в 96-луночных планшетах для иммуноферментного анализа [4]. Для изучения вышеуказанной способности использовались суточные культуры *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, выделенные от больных с СДС. Количественным выражением степени биопленкообразования служили значения оптической плотности, измеряемые на фотометре StatFax-2100.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У больных исследуемой группы с СДС выделены следующие клинические формы поражения нижних конечностей: нейропатическая форма – у 8 (29,6%) пациентов, ишемическая – у 5 (18,5%), нейроишемическая – у 14 (51,8%) находившихся под наблюдением. Из них у 19 (70,4%) пациентов выполнялись хирургические вмешательства различного объема: вскрытие флегмоны стопы – у 11 (40,7%), ампутация пальцев и резекция костей стопы – у 5 (18,5%), ампутация на уровне бедра – у 3 (11,1%).

Выраженной зависимости глубины поражения с вовлечением в гнойно-некротический процесс мягких тканей и кости от клинической формы СДС в ходе наблюдения не регистрировалось (табл. 1).

Перед началом антимикробной терапии и в период курса лечения антибиотиками про-

водили микробиологический контроль, цитологическое исследование материала со дна раны, из ее боковых стенок и участка затеков – карманов, а также из зоны изъязвленных и ишемизированных участков пораженной конечности.

В результате проведенного исследования было выделено 49 штаммов возбудителей. Основными представителями среди выделенных микроорганизмов были *Staphylococcus aureus* (18 штаммов), коагулазонегативные стафилококки *Staphylococcus haemolyticus* (8 штаммов). Среди энтеробактерий обнаружены *Enterobacter cloacae* (7 штаммов) и *Escherichia coli* (6 штаммов); *Enterococcus faecalis* (6 штаммов), *Proteus mirabilis* (2 штамма) и *Acinetobacter baumannii* (2 штамма) (рис. 1).

Обсемененность раны у обследуемых больных на момент первичного обследования составила в среднем $2,5 \pm 0,03 \times 10^4$ КОЕ/мл, у пациентов контрольной группы – $1,6 \pm 0,02 \times 10^5$ КОЕ/мл. При цитологическом исследовании выявлено, что до начала лечения в ране у больных преобладал воспалительно-регенераторный тип цитограммы. К 15-17 сут от начала лечения у 89,7% пациентов отмечен переход к регенераторному типу цитограммы. В контрольной группе регенерация наступала к 23-25 сут.

Для рассмотрения способности выделенных микроорганизмов участвовать в формировании биопленочных конгломератов, состоящих из бактерий и внеклеточного матрикса, применяли фотометрический метод. Интенсивность образования биопленки оценивалась через 24 ч после внесения микробов в пластиковые планшеты с бульоном Мюллер-Хинтон. Образование биопленок изучалось до начала антимикробной терапии и через 10-14 сут после начала лечения диабетической стопы. Во время эксперимента отмечено незначительное преобладание активности стафилококковой флоры в формировании биопленок – 1,4-1,6 у. е. опт. пл. по сравнению с *E. coli* – 1,2-1,4 у. е. опт. пл. перед началом проведения лечебных мероприятий. Через определенный промежу-

Таблица 1 — Формы СДС в клинических группах

Клинические группы	Клинические формы (%)		
	нейропатическая	ишемическая	нейроишемическая
Инфицирование мягких тканей без повреждения костей	37,5	20,0	42,9
Инфицирование мягких тканей с повреждением костей	37,5	40,0	28,6
Гангрена	25,0	40,0	28,6

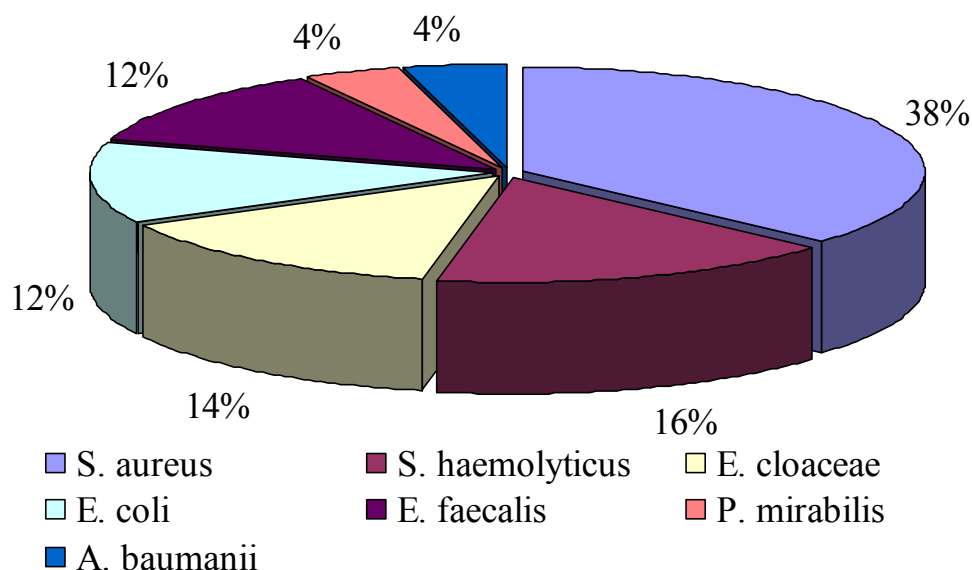


Рисунок 1 — Этиологическая структура раневого отделяемого у больных с синдромом диабетической стопы

ток времени после начала применения противомикробных средств обнаружена тенденция к снижению интенсивности формирования биопленок: у *S. aureus* – 1,2-1,5 у. е. и у *E. coli* – 0,9-1,1 у. е. соответственно.

Всем больным с СДС в амбулаторно-стационарном режиме проводили комплексное лечение, одним из обязательных компонентов которого было внутривенное введение ангиоактивных препаратов (трентал, пентоксифиллин, агапурин, актовегин, алпростан, вазопростан и др.) в среднем от 10-14 сут до 4-8 нед. и более.

Также проводилась целенаправленная антибактериальная терапия на фоне комплексного хирургического лечения в зависимости от клинической группы. Были использованы цефалоспорины II-III-IV поколений (цефуроксим, цефтазидим, цефтриаксон, цефепим), хинолоны III-IV поколения (левофлоксацин, моксифлоксацин), метронидазол и др., которые были широко внедрены в комплексное лечение СДС с учетом их фармакодинамических и фармакокинетических характеристик эффективности в отношении возбудителей при ишемической и нейроишемической формах СДС и его разнообразных клинических осложнениях, а также наибольшей активности их проникновения в стерильные и инфицированные зоны ишемии мягких тканей пораженной стопы.

Каждый курс лечения проводился в соответствии с результатами бактериологиче-

ских посевов и выбором препаратов, к которым была выявлена наибольшая чувствительность.

Купирование гнойно-воспалительного процесса удалось достичь в 71% случаев, ампутация пораженной конечности потребовалась в 29%. Умерло 7% больных, летальный исход, возможно, связан с быстротекущими деструктивными изменениями в ране и присоединением патогенной аэробной и анаэробной микрофлоры.

ВЫВОДЫ

1. Возбудителями хронической инфекции у обследуемых пациентов были представители грамположительной и грамотрицательной флоры с тенденцией преобладания представителей рода *Staphylococcus*. Изучение способности микроорганизмов к формированию биопленочных структур показало незначительную разницу в изучении этой активности между представителями рода *Staphylococcus* и *Escherichia*.

2. В процессе лечения осложнений сахарного диабета отмечено снижение активности этого процесса, но для более детального изучения описанного явления требуются дополнительные исследования.

3. По результатам комплексной антибактериальной интенсивной корригирующей терапии тяжелых инфекционных осложнений синдрома диабетической стопы в сочетании с введением ангиоактивных препаратов и активной хирургической обработкой инфекционно-

гнойного очага показано, что даже такой современный комплексный подход не приводит к радикальному решению проблемы раневого процесса. Это в свою очередь влечет за собой поиск эффективных мероприятий, позволяющих активно нивелировать развивающиеся осложнения сахарного диабета с целью максимального предотвращения ампутаций поражаемых конечностей и летальных исходов.

ЛИТЕРАТУРА

1 Введение в клиническую микробиологию /А. Г. Бойцов, В. П. Иванов, О. Н. Ластовка, А. А. Порин. – М., 1999. – С.153.
 2 Ильина Т. С. Биопленки как способ существования бактерий окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития /Т. С. Ильина, Ю. М. Романова, АЛ. Гинцбург // Генетика. – 2004. – Т. 40, №11. – С. 1-12.
 3 Николаев Ю. А. Биопленка – «город микробов» или аналог многоклеточного организма? /Ю. А. Николаев, В. И. Плакунов //Микробиология. – 2007. – Т. 76, №2. – С. 149-163.

4 Состояние бактериальных биопленок при длительном культивировании /Г. В. Тец, Н. К. Артеменко, Н. В. Заславская, В. В. Тец // Иммунология и микробиология. – 2013. – Т. 155, №4. – С. 460-463.
 5 Чеботарь И. В. Лабораторная диагностика клинически значимых биопленочных процессов /И. В. Чеботарь, Е. Л. Гурьев //Вопр. диагностики и педиатрии. – 2012. – №4. – С. 15-20.
 6 Чеботарь И. В. Антибиотикорезистентность биопленочных бактерий /И. В. Чеботарь, А. Н. Маянский, Е. Д. Кончакова //Клинич. микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – № 14. – С. 51-58.
 7 Hall-Stoodley L. Evolving concepts in biofilm infections /L. Hall-Stoodley, P. Stoodley //Cell Microbiol. –2009. – V. 11, №7. – P. 1034-1043.
 8 Wolcott R.D. Chronic wounds and the medical biofilm paradigm //J. Wound Care. – 2010. – V. 19, №2. – P. 45-53.

Поступила 30.09.2013

С. Б. Ахметова, А. Б. Николаева, Е. Н. Котенева, А. В. Лавриненко, В. А. Феоктистов
ДИАБЕТИК ӨКШЕ СИНДРОМЫМЕН СЫРҚАТ ПАЦИЕНТТЕРДЕГІ ЖАРА СЫРТЫНЫҢ КЛИНИКАЛЫҚ ФОРМАЛАРЫ МЕН ЭТИОЛОГИЯЛЫҚ ҚҰРЫЛЫМЫ

Диабеттік өкше синдромымен науқастардың аяқтарының зақымдалу деңгейі мен жара сыртының микробтық көрінісін зерттеу осы мақаланың мақсаты болып табылады. Зерттелген пациенттердегі созылмалы инфекцияның қоздырғыштары Staphylococcus текті өкілдерінің басымдығымен грамоң және грамтеріс флора өкілдері болып табылған. Науқастардан бөлінген микроорганизмдердің биопленкалы құрылымдар жасақтауға қабілетін зерттеу Staphylococcus және Escherichia тектері арасындағы белсенділіктің аздаған айырмашылығын көрсетті. Араласқан іріңді-қабыру процесі 71% жағдайда орын алған, зақымдалған аяқтарды ампутациялау 29% жағдайда талап етілген, өлім 7% жағдайда тіркелген.

Кілт сөздер: диабеттік өкше синдромы, микробты пейзаж, биопленкалы құрылымдар, іріңді-қабыну үдерісі

S. B. Akhmetova, A. B. Nikolayeva, Ye. N. Kotenyova, A. V. Lavrinenko, V. A. Feoktistov
CLINICAL FORMS AND ETIOLOGICAL STRUCTURE OF THE WOUND SURFACE IN PATIENTS WITH DIABETIC FOOT SYNDROME

The aim of the study was to investigate the extent of damage of the lower extremities and the microbial landscape of the wound surface in patients with diabetic foot syndrome. Pathogens of chronic infection of the tested patients were representatives of gram-positive and gram-negative flora with the trend predominance of the genus Staphylococcus. The study of the ability of microorganisms to form the biofilm structures isolated from patients showed no significant differences in the study of this activity between members of the genus Staphylococcus and Escherichia. The relief of inflammatory processes has been achieved in 71% of cases, the amputation of the affected limb was required in 29% of cases, death was registered in 7% of cases.

Keywords: diabetic foot syndrome, microbial landscape, biofilm structure, inflammatory process