

А. Е. Трифоненко, М. Ю. Гульнева

УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ В ЭТИОЛОГИИ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ФОРМ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Сахарным диабетом в настоящее время страдает 4–6% населения развитых стран. По данным Всемирной организации здравоохранения, во всех странах мира насчитывается более 150 миллионов больных сахарным диабетом и примерно такое же число больных, у которых диабет не выявлен [1]. Синдром диабетической стопы встречается в различной форме у 25% больных и повышает риск летальных исходов при сахарном диабете [2]. На долю данной группы пациентов приходится 50–70% общего количества всех ампутаций нижних конечностей [3]. В хирургических стационарах резко возрастает число больных с синдромом диабетической стопы, который встречается у 28,6–65% больных сахарным диабетом в возрасте от 25 до 75 лет [4, 5]. Синдром диабетической стопы развивается у большинства больных сахарным диабетом 1 типа к 7–10 годам от начала болезни, у больных сахарным диабетом 2 типа может иметь место с начала заболевания [6]. Синдром диабетической стопы представляет собой сложный симптомокомплекс нарушений нейрососудистых, костных, мягкотканых компонентов стопы и проявляется макро- и микроангиопатией, нейропатией, остеоартропатией с развитием трофических нарушений в тканях стопы. Изменения мелких сосудов (микроангиопатия) носят специфический для сахарного диабета характер: утолщение базальной мембраны капилляров, пролиферация эндотелия и отложение в стенке артерий гликолипопротеидов [2, 7].

Наряду с этим в развитии гнойно-некротических осложнений при синдроме диабетической стопы важную роль играет инфекционный фактор. Раневой процесс при синдроме диабетической стопы носит особый характер с наличием поливалентности микробного спектра возбудителей и образованием биопленок, снижающих эффективность лечения [8, 9]. В раневом отделяемом при синдроме диабетической стопы обнаруживаются бактериальные и грибковые инфекционные агенты как в монокультуре, так и в ассоциации аэробных, анаэробных микроорганизмов [10]. Организм больных сахарным диабетом часто колонизирован условно-патогенными микроорганизмами. При этом основными микроорганизмами, заселяющими кожные покровы у больных сахарным диабетом, являются грамположительные кокки с преобладанием *Staphylococcus aureus* и β -гемолитического стрептококка, которые могут играть этиологическую роль в развитии коморбидных инфекций [4, 10]. У пациентов, длительно болеющих и имеющих хронические инфицированные язвы стоп, относительно часто выделяются энтерококки, энтеробактерии, анаэробы, *Pseudomonas aeruginosa* и другие микроорганизмы [4, 11].

Трифоненко Алексей Егорович — аспирант, ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации; e-mail: alex-tri@bk.ru

Гульнева Марина Юрьевна — канд. мед. наук, ассистент, ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации; e-mail: ch-ma@mail.ru

© А. Е. Трифоненко, М. Ю. Гульнева, 2013

Длительная терапия антимикробными препаратами широкого спектра действия, предшествующая госпитализации, а также хирургическое лечение являются предрасполагающими факторами к инфицированию стоп полиантибиотикорезистентными микроорганизмами, например, метициллинорезистентными штаммами *S. aureus* и полирезистентными энтерококками, что значительно ухудшает прогноз заболевания [5, 12]. Совершенствование тактики диагностики, диспансеризации, методов лечения позволяют повысить эффективность лечения и снизить частоту ампутаций у больных с синдромом диабетической стопы на 43–85% [1]. Все это определяет целесообразность изучения роли микроорганизмов при синдроме диабетической стопы.

Цель исследования. Изучение колонизации организма больных диабетом 2 типа условно-патогенными микроорганизмами и определение их участия в развитии гнойно-некротических осложнений у больных с синдромом диабетической стопы.

Материалы и методы. Проведено бактериологическое обследование 86 пациентов, из них 56 больных сахарным диабетом 2 типа, у 28 из которых диагностировано гнойно-некротическое осложнение при синдроме диабетической стопы, и 30 условно здоровых лиц, составивших группу сравнения. Гнойно-некротические поражения при синдроме диабетической стопы локализовались ниже уровня коленного сустава, без показаний к срочной ампутации и при отсутствии другой инфекционной патологии, требующей антибиотикотерапии. Средний возраст пациентов составил 65 лет. Средняя длительность заболевания сахарным диабетом 16,2 лет. Среди исследуемых пациентов мужчин было 57,1%, женщин — 42,9%.

Исследование микрофлоры очагов гнойной инфекции и слизистых оболочек носа осуществляли с использованием бактериологического метода, руководствуясь приказом МЗ №535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (2006). Забор материала для микробиологического исследования проводили стерильным тампоном в транспортную среду. В ходе бактериологического исследования выделяли чистую культуру микроорганизмов. Микроорганизмы идентифицировали по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам. Выделено и идентифицировано 179 штаммов условно-патогенных микроорганизмов, из них 41 — из раневого отделяемого у больных с синдромом диабетической стопы, 74 — со слизистой оболочки носа у больных сахарным диабетом и 64 штамма — со слизистой оболочки носа у лиц группы сравнения. Антибиотикочувствительность выделенных микроорганизмов оценивалась диско-диффузионным методом Кирби—Бауэра в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.1890–04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» (Москва, 2004).

Статистический анализ данных выполнен на IBM PC совместимом компьютере с помощью программы STATISTICA (Data analysis software system, StatSoft) версия 7.0. Дискретные величины результатов исследования сравнивались с использованием критерия χ^2 . Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. У здоровых лиц группы сравнения на слизистой оболочке носа обнаружены грамположительные стафилококки видов: *Staphylococcus aureus*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* (таблица). Частота выделения стафилококков видов *S. aureus* и *S. haemolyticus*, отличающихся наличием признаков патогенности, была сравнительно низкой и составляла соответственно 4,7% и 7,8%. У лиц группы сравне-

ния микрофлора слизистой оболочки носа характеризовалась наличием эпидермального и сапрофитического стафилококков, которые составляли соответственно 45,3% и 42,2% выделенных культур. У лиц группы сравнения со слизистой оболочки носа не выделялись грамотрицательные условно-патогенные энтеробактерии. У больных сахарным диабетом 2 типа на слизистых оболочках носа выявлен иной микробный биоценоз. При сахарном диабете на слизистых оболочках носа больных наблюдалось распространение как грамположительных, так и грамотрицательных условно-патогенных микроорганизмов. У больных диабетом 2 типа существенно изменялась частота выделения отдельных видов стафилококков. Повышалась до 59,5% частота распространения *S. aureus* при существенном снижении частоты выделения *S. epidermidis* до 13,5% и не идентифицировались стафилококки вида *S. saprophyticus* ($p < 0,05$). Наряду с этим на слизистой оболочке носа больных были обнаружены грамотрицательные микроорганизмы семейства Enterobacteriaceae (*Klebsiella*, *Morganella*), которые не выделялись у лиц группы сравнения ($p < 0,05$). Бактерии рода *Klebsiella* были выделены в 25,7% случаев, а рода *Morganella* составили 8,1% изолированных культур.

Частота выделения условно-патогенных микроорганизмов у больных сахарным диабетом

Микроорганизмы	Источник выделения					
	Гнойная рана		Слизистая оболочка носа			
	Больные с синдромом диабетической стопы		Больные сахарным диабетом		Здоровые	
	Количество штаммов					
	$n = 41$		$n = 74$		$n = 64$	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>S. aureus</i>	12 ¹	29,3	44 ¹	59,5	3	4,7
<i>S. haemolyticus</i>	3	7,3	16 ¹	21,6	5	7,8
<i>S. epidermidis</i>	2 ¹	4,9	10 ¹	13,5	29	45,3
<i>S. saprophyticus</i>	0 ¹	0	0 ¹	0	27	42,2
<i>E. coli</i>	2	4,9	0	0	0	0
<i>Proteus vulgaris</i>	2	4,9	0	0	0	0
<i>Klebsiella</i> spp.	6 ¹	14,6	19 ¹	25,7	0	0
<i>Enterobacter</i> spp.	4 ^{1,2}	9,8	0	0	0	0
<i>Morganella morganii</i>	2	4,9	6 ¹	8,1	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 ^{1,2}	9,8	0	0	0	0
Грибы рода <i>Candida</i>	4 ¹	9,8	2	2,7	0	0

Примечание. ¹ — достоверность различий в частоте выделения микроорганизмов с группой сравнения, ² — с больными сахарным диабетом (данные χ^2 , $p < 0,05$).

Изучение характера микрофлоры очагов гнойно-некротических поражений при синдроме диабетической стопы показало наибольшую частоту обнаружения *S. aureus* — 29,3%. Бактерии рода *Klebsiella* spp. составили 14,6% выделенных культур. В раневом отделяемом обнаружены и другие грамотрицательные бактерии семейства

Enterobacteriaceae. Бактерии рода *Enterobacter* составили 9,8% культур, родов *Proteus*, *Morganella* и *Escherichia* выделены в 4,9% случаев. В 9,8% случаев была выделена культура *Pseudomonas aeruginosa*. При гнойно-некротических формах синдрома диабетической стопы 9,8% изолированных штаммов составляли грибы рода *Candida*.

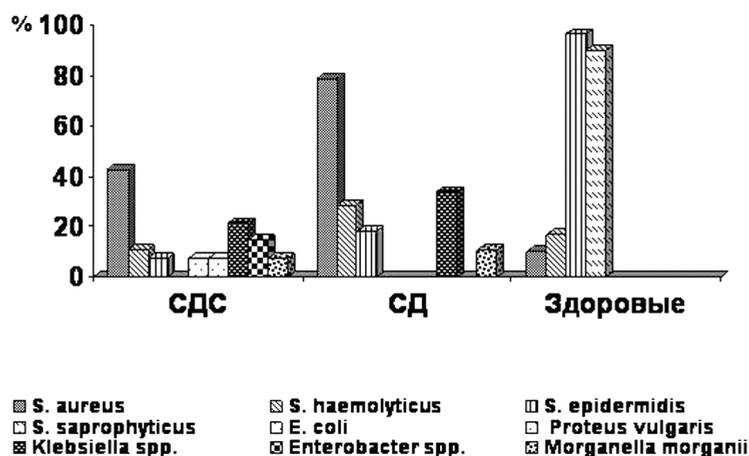


Рис. 1. Распространенность условно-патогенных микроорганизмов при гнойно-некротических формах синдрома диабетической стопы

Условно-патогенные микроорганизмы из очагов инфекции при синдроме диабетической стопы выделялись в монокультуре у 15 больных и в ассоциациях друг с другом у 13 больных. Микрофлора очагов инфекции при синдроме диабетической стопы представлена на рисунке 1. Видовой состав выделенных из очага инфекции микроорганизмов характеризовался наличием разнообразной микрофлоры. Сравнительно чаще были обнаружены *S. aureus* (у 42,8% больных) и бактерии рода *Klebsiella* (у 21,4% больных). Данные микроорганизмы с высокой частотой выделялись и со слизистой оболочки носа больных сахарным диабетом, соответственно 78,6% и 33,9%. В очагах гнойно-некротических поражений при синдроме диабетической стопы выявлены различные бактерии семейства Enterobacteriaceae. Микроорганизмы рода *Enterobacter* обнаружены у 14,3% больных. Штаммы *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* выделены у 7,1% больных.

Изучение спектра чувствительности выделенных культур к пеницилинам (природным, расширенного спектра действия, ингибиторозащищенным), цефалоспорином (1–2 и 3–4 поколений), карбапенемам, аминогликозидам, фторхинолонам, тетрациклам, макролидам, линкозамидам, гликопептидам и антибиотикам разных групп (фузидин, левомицетин, рифампицин) показало, что микроорганизмы отличались полиантибиотикорезистентностью, проявляя как природную, так и приобретенную антибиотикорезистентность (рис. 2). Частота выделения чувствительных к антибиотикам штаммов *S. aureus* была в пределах 75% в отношении цефалоспоринов, к карбапенемам и фторхинолонам проявляли чувствительность 83% культур, к аминогликозидам — 41%, к ингибиторозащищенным пеницилинам — 75% штаммов. Культуры *Pseudomonas aeruginosa* проявляли чувствительность к карбапенемам (50% штаммов), фторхинолонам (75%), ингибиторозащищенным пеницилинам (25% культур). Пред-

ставители рода *Enterobacter* spp. были чувствительны к цефалоспорином в 25% случаев, карбапенемам в 50%, фторхинолонам в 75%, аминогликозидам в 50%, ингибиторозащищенным пенициллинам в 75% случаев. Микроорганизмы рода *Klebsiella* были чувствительны к цефалоспорином (33% штаммов), карбапенемам (67%), фторхинолонам (83%), аминогликозидам (50%), ингибиторозащищенным пенициллинам (67% культур).

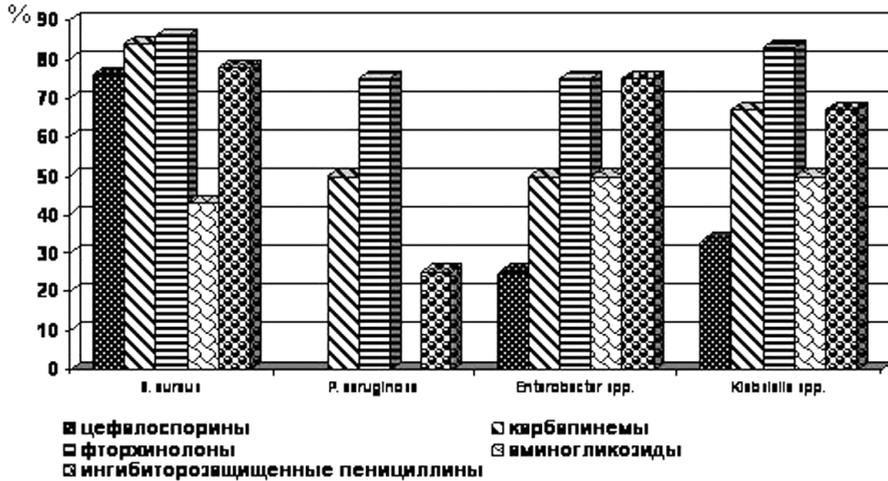


Рис. 2. Чувствительность к антибиотикам микроорганизмов, выделенных при гнойно-некротических осложнениях у больных с синдромом диабетической стопы

Обсуждение результатов. Проведенные исследования показали, что при сахарном диабете наблюдается колонизация организма больных условно-патогенными микроорганизмами. У больных диабетом 2 типа на слизистой оболочке носа преобладают патогенные стафилококки вида *S. aureus*. Наряду с этим выделяются грамотрицательные условно-патогенные микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae*, которые не высеваются у здоровых лиц. Изучение характера микрофлоры в раневом отделяемом показало, что ведущую роль в развитии гнойно-некротического процесса также играют золотистый стафилококк и условно-патогенные микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae*. Таким образом, условно-патогенные микроорганизмы, колонизирующие организм больных сахарным диабетом 2 типа, могут играть ведущую роль в развитии гнойно-некротического процесса при синдроме диабетической стопы. Изучение колонизационных свойств микроорганизмов у больных сахарным диабетом 2 типа может быть использовано в прогнозировании развития инфекционных осложнений. Наряду с этим колонизация организма больных диабетом грамотрицательными микроорганизмами, основными продуцентами эндотоксина, может нарушать деятельность нейтрофилов, играющих важную роль в патогенезе диабета, и способствовать развитию синдрома диабетической стопы [13]. Условно-патогенные энтеробактерии также могут способствовать нарастанию эндоинтоксикации у больных сахарным диабетом. Эндотоксин энтеробактерий, активируя различные рецепторы (Toll-like, CD-14), запускает каскад реакций, приводящих к повышению уровня провоспалительных цитокинов, и поддерживает системное воспаление [14]. В очагах гнойно-некротической инфекции

выявлено большое разнообразие микроорганизмов, что свидетельствует о полиэтиологии гнойно-некротических форм синдрома диабетической стопы. Возбудители инфекции отличаются выраженной полиантибиотикорезистентностью. Препаратами выбора для антибиотикотерапии могут быть фторхинолоны, ингибиторозащищенные пенициллины, карбапенемы. Повысить эффективность лечения гнойно-некротических форм синдрома диабетической стопы можно, определяя вид и антибиотикочувствительность микроорганизмов в каждом конкретном случае.

Таким образом, при гнойно-некротических осложнениях синдрома диабетической стопы с высокой частотой выделяются условно-патогенные грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы.

Грамотрицательные бактерии семейства Enterobacteriaceae распространены на слизистых оболочках носа у больных сахарным диабетом 2 типа и могут иметь значение в развитии гнойно-некротических поражений при синдроме диабетической стопы.

При гнойно-некротических формах синдрома диабетической стопы выделяются микроорганизмы, которые отличаются полиантибиотикорезистентностью, для повышения эффективности лечения целесообразно определить вид и антибиотикочувствительность микроорганизмов в каждом конкретном случае.

Литература

1. Митиш В. А., Ерошкин И. А., Ерошенко А. В. Гнойно-некротические поражения нейроишемической формы синдрома диабетической стопы. Новые возможности комплексного хирургического лечения // Эндокринная хирургия. 2008. № 1.
2. Karrer S. Diabetic foot syndrome // Hautarzt. 2011. Vol. 62(7). P. 493–503.
3. Rogers L. C., Frykberg R. G., Armstrong D. G. et al. The charcot foot in diabetes // J. Am. Podiatr. Med. Assoc. 2011. Vol. 101(5). P. 437–446.
4. Lipsky B. A. A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot // Diabetes Metab. Res. Rev. 2004. Vol. 20(1). P. 68–77.
5. Привольнев В. В., Реишедько Г. К., Савкин В. А., Кречикова О. И. Структура возбудителей и их антибиотикорезистентность при инфекциях нижних конечностей у больных сахарным диабетом // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2009. № 1. С. 86–89.
6. Baumgartner R. Forefoot and midfoot amputations // Oper Orthop Traumatol. 2011. Vol. 23(4). P. 254–264.
7. Delahoussaye-Shields R. M., Delahoussaye-Soine R. L., Soine E. J. et al. A 57-year-old man with diabetes and a toe infection // La State Med. Soc. 2011. Vol. 163(4). P. 230–232.
8. Рисман Б. В., Рыбальченко О. В., Бондаренко В. М., Рыжанкова А. В. Подавление бактериальных биопленок при гнойно-некротических осложнениях синдрома диабетической стопы методом ультразвуковой кавитации // Журн. микробиол. 2011. Т. 4. С. 14–19.
9. Рисман Б. В. Лечение гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2011.
10. Nather A., Bee C. S., Huak C. Y. et al. Epidemiology of diabetic foot problems and predictive factors for limb loss // J. Diabetes Complications. 2008. Vol. 22(2). P. 77–82.
11. Tascini C., Piaggese A., Tagliaferri E. et al. Microbiology at first visit of moderate-to-severe diabetic foot infection with antimicrobial activity and a survey of quinolone monotherapy // Diabetes Res. Clin. Pract. 2011. Vol. 94(1). P. 133–139.
12. Edmonds M. The treatment of diabetic foot infections: focus on ertapenem // Vasc. Health Risk Manag. 2009. Vol. 5. P. 949–963.
13. Loś T., Torres K., Bojarska-Łoś M. et al. Selected metabolites of neutrophils in patients with 2-type diabetes complicated and non complicated with diabetic foot syndrome during colonization of E. coli toxin // Folia Histochem Cytobiol. 2009. Vol. 47(3). P. 411–414.
14. Drexler S. K., Foxwell B. M. The role of Toll-like receptors in chronic inflammation // Int. J. Biochem. Cell. Biol. 2009. Vol. 42(4). P. 506–518.

Статья поступила в редакцию 19 февраля 2013 г.