

Роль грампозитивної мікрофлори та її резистентність при гнійно-некротичних ускладненнях у хворих із синдромом діабетичної стопи

С. Д. Шаповал, І. Л. Савон, Л. А. Василевська, О. О. Максимова, Л. Ю. Слободченко
Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України

The role of a gram-positive microflora and its resistance in purulent-necrotic complications in patients, suffering syndrome of diabetic foot

S. D. Shapoval, I. L. Savon, L. A. Vasylevska, O. O. Maksymova, L. Yu. Slobodchenko
Zaporizhzhya Medical Academy of Postgraduation Education

Реферат

Мета. Поліпшити результати лікування хворих із синдромом діабетичної стопи шляхом проведення спрямованої антибактеріальної терапії з урахуванням резистентності виявленої мікрофлори та з'ясувати роль грампозитивної мікрофлори у виникненні ускладнень.

Матеріали і методи. Обстежено 1824 пацієнти із синдромом діабетичної стопи за період з 2015 по 2019 р., у яких було гнійно-некротичне ураження стопи – абсцес, флегмона, гнійний тендовагініт, гнійний артрит, гангрена. Усі хворі мали цукровий діабет 2-го типу, середня тривалість якого становила (12,3 ± 2,7) року. Якісний склад мікрофлори і чутливість виділених культур до антибіотиків визначали на автоматичних мікробіологічних аналізаторах «Vitek2» та BacT/ALERT (Франція).

Результати. Причиною гнійно-некротичних ускладнень була грампозитивна мікрофлора, яка у 57,1 – 66,8% хворих визначалась при моноінфекції та переважала у складі мікробіальних асоціацій. Феномен резистентності до основних антибактеріальних препаратів виявлено у 37,4% бактерій. Найбільшу стійкість мали Staphylococcus aureus та Enterococcus faecalis. У 62,5% хворих із Staphylococcus aureus виявлено ген резистентного до метициліну Staphylococcus aureus з трьома генетичними варіаціями, які відрізнялися за резистентністю до певних груп антибіотиків. Найбільш значущий MRSA тип 3 – панрезистентний (у 6,2% хворих).

Висновки. Дослідження гнійно-некротичних вогнищ у хворих із синдромом діабетичної стопи свідчить про те, що провідним мікроорганізмом у разі розвитку ускладнень є грампозитивна мікрофлора, яка характеризується полірезистентними та панрезистентними штамми. Подібна обставина обґрунтовує потребу корегування призначеної антибактеріальної терапії.

Ключові слова: синдром діабетичної стопи; грампозитивна мікрофлора; антибактеріальна терапія; резистентність.

Abstract

Objective. To improve the results of treatment in patients, suffering diabetic foot syndrome (DFS), using conduction of the directed antibacterial therapy, taking into account the resistance of microflora revealed, and to reveal the role of a gram-positive microflora in occurrence of complications.

Materials and methods. There were examined 1824 patients, suffering DFS for period from 2015 to 2019 yr., who suffered purulent-necrotic affections of the foot – abscess, phlegmon, purulent tendovaginitis, purulent arthritis, gangrene. All the patients suffered diabetes mellitus Type 2, average duration of which have constituted (12.3 ± 2.7) yrs. Qualitative content of microflora and sensitivity of cultures for antibiotics were revealed on automatic microbiological analyzers «Vitek2» and BacT/ALERT (France).

Results. The cause of purulent-necrotic complications was a gram-positive microflora, which in 57.1 – 66.8% patients was diagnosed in monoinfection and prevailed in a content of microbial associations. Phenomena of resistance to the main antibacterial preparations was revealed in 37.4% bacteria. The biggest resistance have had Staphylococcus aureus and Enterococcus faecalis. In 62.5% patients, owing Staphylococcus aureus, a resistance gene to Staphylococcus aureus with three genetic variations were revealed, which differed in accordance to resistance for certain groups of antibiotics. The most significant MRSA Type 3 – panresistant (in 6/2% patients).

Conclusion. Investigations of purulent-necrotic foci in patients with the DFS witnesses, that the leading microorganism while development of complications constitutes a gram-positive microflora, which is characterized by presence of polyresistant and panresistant strains. Such a condition gives background to necessity for correcting of the antibacterial therapy administered.

Keywords: diabetic foot syndrome; gram-positive microflora; antibacterial therapy; resistance.

Серед проблем, пов'язаних з антибактеріальною терапією (АБТ), найбільш значущою є проблема розвитку резистентності до β-лактамів у Staphylococcus aureus та інших представників грампозитивної мікрофлори [1, 2].

Часта клінічна неефективність АБТ обумовлена наявністю Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) і Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL), що призводить до погіршення перебігу захворювання і зростання

смертності, у тому числі й серед хворих із синдромом діабетичної стопи (СДС) [3, 4].

На жаль, жоден із фенотипічних методів не дозволяє у 100% спостережень виявляти ESBL, оскільки можуть зустрічатися мікроорганізми, які мають додаткові механізми, що маскують резистентність [5, 6].

Розвиток резистентності до інгібіторозахищених пеніцилінів і цефалоспоринові обумовлена продукцією бактеріями різних типів ESBL, яка не завжди виявляється при лабораторному тестуванні. До антибіотиків, не схильних до дії ESBL (аміноглікозиди, фторхінолони тощо), розвивається асоційована резистентність внаслідок перенесення плазмідами детермінант лікарської стійкості до антибіотиків інших груп [7, 8].

Результати, отримані в клінічних умовах, свідчать, що за наявності будь-якого ферменту з групи ESBL цефалоспоринозастосовувати не можна [9, 10].

Резистентність до антибіотиків *in vivo* і чутливості *in vitro* може бути обумовлена тим, що в осередку інфекції концентрація мікроорганізмів набагато вища, ніж *in vitro* (ефект інокулюму). Даний механізм описаний щодо цефалоспоринові I – IV поколінь і пеніцилінів [11]. Поширення ESBL триває, оскільки немає реальної альтернативи цефалоспорином, а кількість нових антибіотиків занадто мала, що пов'язано з високими витратами на їх розробку [12, 13].

Використання цефалоспоринові розширеного спектра дії в амбулаторній практиці за відсутності показань або у вигляді коротких курсів так само призводить до зростання резистентності. Проблема ускладнюється застосуванням численних генериків цефалоспоринові, якість яких через недосконалість лабораторних методів практично неможливо проконтролювати. Низький рівень інфекційного контролю та відсутність реального прогресу в цій царині сприяють поширенню антибіотикорезистентності [14 – 16].

Постійний моніторинг чутливості і резистентності є основним методом вибору антибіотика за його клінічної ефективністю, що уможливує корекцію програм і алгоритмів з лікування інфекційних ускладнень.

Мета дослідження: поліпшити результати лікування хворих із СДС шляхом проведення спрямованої АБТ з урахуванням резистентності мікроорганізмів та з'ясувати роль грампозитивної мікрофлори у виникненні ускладнень.

Матеріали і методи дослідження

Обстежено 1727 пацієнтів із СДС, які перебували на лікуванні в гнійно-септичному центрі з ліжками «діабетичної стопи» Комунального некомерційного підприємства «Міська лікарня № 3» м. Запоріжжя у 2014 – 2018 рр. Усі хворі мали цукровий діабет (ЦД) 2-го типу, середня тривалість якого становила $(12,8 \pm 2,9)$ року.

Відповідно до класифікації Міжнародної робочої групи з проблем діабетичної стопи (Нідерланди, 1991) пацієнти були розподілені за клінічними формами – нейропатичною, ішемічною та змішаною.

У всіх хворих СДС був ускладнений гнійно-некротичним ураженням стопи (абсцес, флегмона, гнійний тендо-

вагіт, гнійний артрит, гангрена). У патологічний процес були залучені фасції, м'язи, сухожилля і кістки стопи.

Усі хворі були оперовані, а комплекс лікувальних заходів включав обов'язкове використання антибактеріальних препаратів за результатами мікробіологічного дослідження клінічного матеріалу, взятого з гнійно-некротичного вогнища.

Підбір хворих для дослідження здійснювали з урахуванням тривалості і клінічної форми захворювання. Не включали в дослідження хворих з різко відмінними характеристиками (тяжкі хронічні супутні захворювання, ЦД 1-го типу, СДС з неушкодженим шкірним покривом, хворі, які перебували на гемодіалізі).

Якісний склад мікрофлори і чутливість виділених культур до антибіотиків визначали на автоматичних мікробіологічних аналізаторах «Vitek2» та «ВасТ/ALERT» (Франція). Технічні можливості методики дозволяли ідентифікувати аеробні і факультативно-анаеробні мікроорганізми, крім неспорують анаеробних мікроорганізмів, а так само виявити ген MRSA.

Статистичний аналіз проводили з використанням програмного пакета «Statgraphics Plus for Windows 7,0».

Результати

При дослідженні гнійно-некротичного вогнища у 1663 (96,3%) хворих отримані позитивні результати ранового відокремлюваного, а також антибіотикограми, що характеризують чутливість до антибактеріальних препаратів. Усього ідентифіковано 27 видів бактерій. У 44 (2,5%) хворих росту бактерій не виявлено, а у 1152 (66,7%) хворих виділена змішана мікрофлора.

У складі аеробної моноінфекції грампозитивна мікрофлора становила 66,2%. Серед грампозитивної мікрофлори переважали представники роду мікрококів: *Staphylococcus aureus* – 27,3% і *Staphylococcus epidermidis* – 9,2%. У меншій кількості виділені стрептококи: *Enterococcus faecalis* – 14,8%, *Enterococcus faecium* – 4,2%, *Streptococcus agalactiae* – 3,6%. Грампозитивні палички представлені *Kokuria kristinae* – 3,4% і *Corynebacterium striatum* – 2,6%.

Серед змішаної аеробної та аеробно-анаеробної асоціації висівали теж переважно *Staphylococcus spp.*

Вивчено фенотип резистентності ідентифікованих бактерій до β -лактамів, аміноглікозидів, фторхінолонів, макролідів, лінкозамідів, оксазолідонів, нітрофуранів, глікопептидів, тетрациклінів, інгібіторів транспорту фолатів, рифампіцину. Феномен резистентності виявлено у 37,4% бактерій.

Серед своїх груп найбільшу резистентність мали: *Staphylococcus aureus* – 62,5%; *Staphylococcus epidermidis* – 43,4%; *Enterococcus faecalis* – 38,7%.

У 60,5% хворих, у яких було висіяно *Staphylococcus aureus*, виявлено ген MRSA. У 39,5% хворих був *Methicillin Susceptible Staphylococcus aureus* (MSSA). Кількість MRSA штамів достовірно ($p < 0,05$) перевищувала кількість MSSA штамів на 34,8%.

Серед MRSA були виділені три генетично різних лінії. Ці генетичні варіації всередині штамів MRSA відрізнялися своєю резистентністю до певних груп антибіотиків.

MRSA тип 1 (52,2% хворих із MRSA) – чутливий до аміноглікозидів (амікацин, гентаміцин, нетилміцин), фторхінолонів (ципрофлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин), макролідів (азитроміцин, кларитроміцин, рокситроміцин), лінкозамідів (кліндаміцин, лінкоміцин), ліпопептидів (даптоміцин), оксазолідіонів (лінезолід), глікопептидів (ванкоміцин, тейкопланін), гліцилциклінів (тігециклін), інгібіторів транспорту фолатів (триметоприм/сульфаметоксазол).

MRSA тип 2 (43,5% хворих із MRSA) – чутливий до ліпопептидів (даптоміцин), глікопептидів (ванкоміцин, тейкопланін), гліцилциклінів (тігециклін), інгібіторів транспорту фолатів (триметоприм/сульфаметоксазол).

MRSA тип 3 (6,2% хворих із MRSA) – панрезистентний.

Обговорення

Найбільш ефективними препаратами за наявності MRSA визначені: тігециклін (група гліцилциклінів); даптоміцин (група ліпопептидів); тейкопланін, ванкоміцин (група глікопептидів).

Вивчення фенотипу резистентності MSSA до β – лактамів показало прогнозовану стійкість даної групи до цефтазидиму. До цефалоспоринов I і II поколінь стійкість виявлена у 42,4% пацієнтів, до природних і напівсинтетичних пеніцилінів – у 78,2%. До захищених пеніцилінів, цефалоспоринов III і IV поколінь, карбапенемів резистентності не виявлено.

Фенотип резистентності до нітрофурантоїну, рифампіцину і тобраміцину був у 100% пацієнтів. Рівень резистентності більше 50% виявлено до препаратів з групи макролідів, лінкозамідів, ципрофлоксацину з групи фторхінолонів і триметоприму з групи інгібіторів транспорту фолатів.

Рівень чутливості більше 80% мали амікацин, гентаміцин (група аміноглікозидів); левофлоксацин, моксифлоксацин (група фторхінолонів); даптоміцин (група ліпопептидів); ванкоміцин, тейкопланін (група глікопептидів).

Не виявлено фенотипу резистентності до лінезоліду (група оксазолідіонів), триметоприму / сульфаметоксазолу (група інгібіторів транспорту фолатів) і тайгецикліну (група гліцилциклінів).

Отримані дані свідчать, що на MSSA ефективно впливають: захищені амінопеніциліни; цефалоспоринов III покоління (цефтриаксон); захищені цефалоспоринов III покоління; цефалоспоринов IV покоління (цефепім); препарати з групи аміноглікозидів (крім тобраміцину); фторхінолони; лінкозаміди; глікопептиди; гліцилцикліни; інгібітори транспорту фолатів (триметоприм/сульфаметоксазол).

У 66,7% бактерій *Staphylococcus epidermidis* виявлено ген *mec A*, що характеризує наявність фенотипу резистентності до β –лактамних антибіотиків. У 16,0% хворих виявлені панрезистентні штами.

Найбільш ефективними були: група аміноглікозидів (крім тобраміцину); фторхінолони; лінкозаміди; глікопептиди.

Серед *Streptococcus agalactiae* резистентних форм не виявлено, чутливість збережена до β – лактамних антибіотиків, фторхінолонів, макролідів, лінкозамідів.

Enterococcus faecalis має 100% фенотип резистентності до β –лактамів і фторхінолонів; у 84,8% хворих зберегалася чутливість до оксазолідіонів; більше ніж у 85% – до глікопептидів. «Універсальним» антибіотиком із 100% чутливістю був тігециклін.

Enterococcus faecium характеризувались фенотипом резистентності до β –лактамів, аміноглікозидів, фторхінолонів, макролідів.

Ефективними препаратами з хорошою чутливістю були: лінезолід (оксазолідіони); тігециклін (група гліцилциклінів); даптоміцин (група ліпопептидів); тейкопланін, ванкоміцин (група глікопептидів).

Coagulans striatum мали чутливість до лінезоліду (оксазолідіони); тігецикліну (група гліцилциклінів); даптоміцину (група ліпопептидів); тейкопланіну і ванкоміцину (група глікопептидів).

У всіх випадках ідентифікації *Kokuria kristinae* виявлено наявність гена резистентності. Зафіксовано фенотип резистентності до β –лактамів, аміноглікозидів, фторхінолонів, макролідів. Збережена чутливість до лінезоліду (оксазолідіони); тігецикліну (група гліцилциклінів); даптоміцину (група ліпопептидів); тейкопланіну і ванкоміцину (група глікопептидів).

Висновки

1. Феномен резистентності до основних антибактеріальних препаратів виявлено у 37,4% бактерій. Найбільшу стійкість серед грампозитивної мікрофлори мали *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*.

2. У 60,5% хворих із *Staphylococcus aureus* виявляється ген MRSA з трьома генетичними варіаціями, які мають різну резистентність до певних груп антибіотиків. Найбільш значущий MRSA тип 3 – панрезистентний (6,2% хворих). Кількість MRSA штамів у хворих із СДС та гнійно–некротичними ускладненнями достовірно ($p < 0,05$) перевищує кількість MSSA штамів на 34,8%.

3. Дослідження гнійно–некротичного вогнища у хворих із СДС дають змогу не тільки визначити якісний склад мікрофлори, чутливість до антибіотиків, а й виявити полірезистентні та панрезистентні штами, своєчасно внести корективи в проведення АБТ.

Підтвердження

Фінансування. Це дослідження є фрагментом НДР Інституту сепсису ДЗ «ЗМАПО МОЗ України» «Діагностика та лікування сепсису у хворих на ускладнений синдром діабетичної стопи». Фінансування за рахунок бюджету.

Внесок авторів. Всі автори зробили однаковий внесок у цю роботу. Всі автори прочитали і схвалили остаточний варіант рукопису.

Конфлікт інтересів. Автори, які взяли участь у цьому дослідженні, заявили, що вони не мають конфлікту інтересів щодо цього рукопису.

Згода на публікацію. Всі автори дали згоду на публікацію цього рукопису.

References

1. Salmanov AG, Usenko AY. Antibiotikorezistentnost nozokomialnyh shtammov Staphylococcus aureus v hirugicheskikh stacionarah Ukrainy: rezultaty mnogocentrovogo issledovaniya (2015–2016 gg.) Klin khir. 2018;85(5): 5–9. doi: 10.26779/2522–1396.2018.05.05/. [In Russian].
2. Schaper NC, Van Netten JJ, Apelqvist J, Lipsky BA, Bakker K. International working group on the diabetic foot (IWGDF). Prevention and management of foot problems in diabetes: a summary guidance for daily practice 2015, based on the IWGDF guidance documents. 2016;32 Suppl 1:7–15. doi: 10.1002/dmrr.2695.
3. Sokolova VI, Sychev DA, Babarina MB. Diabeticheskaja stopa: vozmozhnosti antibakterialnoj i antioksidantnoj terapii. Antibiotiki i himioterapija. 2018;(5):10–5. [In Russian].
4. Pikuza AV, Rashitov LF, Mitronin MI. Sovremennye podhody v lechenii pacientov s sindromom diabeticheskoy stopy. Lechashhiy vrach. 2018;(6):78–9. [In Russian].
5. Crouzet J, Lavigne JP, Richard JL, Sotto A. Diabetic foot infection: a critical review of recent randomized clinical trials on antibiotic therapy. Int J Infect Dis. 2011 15(9):e601–10. doi: 10.1016/j.ijid.2011.05.003.
6. Gotz J, Lange M, Dullien S, Grifka J, Hertel G, Baier C, Koeck F. Off-loading strategies in diabetic foot syndrome—evaluation of different devices. Int Orthop. 2017;41(2): 239–46. doi: 10.1007/s00264–016–3358–1.
7. Mynakov OE, Andreev AA, Ostroushko AP. Sindrom diabeticheskoi stopy. Vestnik jeksperimentalnoj i klinicheskij hirurgii. 2017;10 (2):165–72. doi: 10.18499/2070–478X–2017–10–2–165–172. [In Russian].
8. Petersl EJ, Lipsky BA, Aragon–Sanchez J. Interventions in the management of infection in the foot in diabetes: a systematic. Diabetes Metab Res Rev. 2016;32 Suppl 1:145 – 53. doi: 10.1002/dmrr.2706.
9. Rundo AI. Sovremennye aspekty etiologii i patogenez diabeticheskoy stopy. Novosti khirurgii. 2015;23(1):97–103. doi: 10.18484/2305–0047.2015.1.97. [In Russian].
10. Nigam Y, Knight J. Diabetes management 3: the pathogenesis and management of diabetic foot ulcers. Nursing Times. 2017;113(5): 51–4.
11. Ahmad J. The diabetic foot. Diabetes Metab. Syndr. 2016;10(1):48–60. doi: 10.1016/j.dsx.2015.04.002.
12. Trybushnoi OV, Shapoval SD, Savon IL, Slobodchenko LI. Mikrobnyi peizazh hniinykh oseredkiv u khvorykh z uskladnenym syndromom diabetichnoi stopy ta pry rozvytku sepsysu. Ukrainskyi zhurnal khirurgii. 2017;(1): 35–9. [In Ukrainian].
13. Elraiyah T, Prutsky G, Domecq JP, Tsapas A, Nabhan M, Frykberg RG, et al. A systematic review and meta-analysis of off-loading methods for diabetic foot ulcers. J Vasc Surg. 2016;63(2): 59–68. doi: 10.1016/j.jvs.2015.10.006.
14. Herasymchuk PO, Shidlovskiy VO, Fira DB. Varianty perebihu ranovoho protsesu u khvorykh iz syndromom diabetichnoi stopy. Suchasni medychni tekhnolohii. 2019;(1): 40–4. [In Ukrainian].
15. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, et al. Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America for the treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in adults and children. Clin Infect Dis. 2011;52(3):e18–55. doi: 10.1093/cid/ciq146.
16. Vatankhah N, Jahangiri Y, Landry GJ, Moneta GL, Azarbal AF. Effect of systemic insulin treatment on diabetic wound healing Wound Repair Regen. 2017;25(2). 288–91. doi: 10.1111/wrr.12514.

Надійшла 18.06.2019