

КЛИНИКО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ МЯГКИХ ТКАНЕЙ СТАФИЛОКОККОВОЙ ЭТИОЛОГИИ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА И ПАЦИЕНТОВ, НЕ СТРАДАЮЩИХ ДИАБЕТОМ

Фадеев С.Б.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук, Оренбург, e-mail: sergfsb@mail.ru;

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Оренбург

В работе проведен сравнительный анализ клинико-бактериологических особенностей гнойно-некротических процессов мягких тканей у больных сахарным диабетом II типа и пациентов, не страдающих диабетом. Были обследованы 50 больных гнойно-некротическими процессами мягких тканей, из них 25 пациентов, страдающих сахарным диабетом II типа, и 25 пациентов, не страдающих сахарным диабетом. Бактериологическое исследование включало идентификацию изолированных из операционного материала бактерий, определение у них гемолитической активности, антибиотикочувствительности и способности формировать биопленки. При бактериологическом исследовании гнойно-некротических очагов у больных сахарным диабетом II типа и пациентов, не страдающих диабетом, было установлено, что типичными возбудителями были стафилококки, изолированные у 92% больных. Стафилококки, изолированные у больных сахарным диабетом II типа, чаще были метициллинрезистентными (45,7% против 23,5%), реже демонстрировали наличие гемолитической активности (28% против 47%) и обладали более высокой способностью формировать биопленки ($p < 0,05$) по сравнению с микроорганизмами, выделенными у пациентов, не страдающих диабетом. Вышеуказанные бактериологические особенности сопровождались стертой клинической картиной гнойно-воспалительной патологии, увеличением сроков очищения раны и появления грануляций у больных сахарным диабетом II типа ($p < 0,05$). Полученные результаты могут быть использованы для повышения качества диагностики и лечения гнойно-некротических процессов у больных сахарным диабетом II типа.

Ключевые слова: воспаление, мягкие ткани, сахарный диабет, стафилококки, антибиотикорезистентность, биопленки, гемолиз

CLINICAL AND BACTERIOLOGICAL FEATURES OF PURULENT-NECROTIC PROCESSES OF SOFT TISSUES OF STAPHYLOCOCCAL ETIOLOGY IN PATIENTS WITH TYPE II DIABETES MELLITUS AND NON-DIABETIC PATIENTS

Fadeev S.B.^{1,2}

¹Federal State Budgetary Institution of Science Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, e-mail: sergfsb@mail.ru;

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Orenburg State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg

A comparative analysis of the clinical and bacteriological features of purulent-necrotic processes of soft tissues in patients with type II diabetes mellitus and non-diabetic patients was carried out. Fifty patients with purulent-necrotic processes of soft tissues were examined, of which 25 patients suffering from type II diabetes mellitus and 25 patients not suffering from diabetes. Bacteriological examination included identification of bacteria isolated from the surgical biopsy material, determination of their hemolytic activity, antibiotic sensitivity and ability to form biofilms. Bacteriological examination of purulent-necrotic foci in patients with type II diabetes mellitus and non-diabetic patients was found to be the typical pathogens of staphylococcus, isolated in 92% of patients. Staphylococcus isolated in patients with type II diabetes mellitus were more often methicillin-resistant (45.7% versus 23.5%), less frequently showed hemolytic activity (28% versus 47%) and had a higher ability to form biofilms ($p < 0.05$) compared with microorganisms isolated from non-diabetic patients. The above bacteriological features were accompanied by an erased clinical picture of purulent-inflammatory pathology, an increase in the time of wound cleansing and the appearance of granulations in patients with type II diabetes mellitus ($p < 0.05$). The obtained results can be used to improve the quality of diagnosis and treatment of purulent-necrotic processes of soft tissues in patients with type II diabetes mellitus.

Keywords: inflammation, soft tissues, diabetes mellitus, staphylococcus, antibiotic resistance, biofilms, hemolysis

Сахарный диабет является одной из важнейших проблем современной медицины. Установлено, что в Российской Федерации в 2016 г. и в динамике 2013–2016 гг. сохраняется рост распространенности сахарного диабета, преимущественно за счет сахарного диабета II типа [1]. Известно, что сахарный диабет повышает риск развития раневых и системных инфекций вследствие метаболических нарушений и снижения иммунитета при гипергликемии [2], патологических изменений периферической нервной системы, артериального и микроциркуляторного русла [3]. Стертость клинической картины гнойных процессов, развившихся на фоне сахарного диабета, затрудняет раннюю диагностику и, следовательно, приводит к несвоевременной реализации лечебных мероприятий. Нередко практический интерес к информации о возбудителях инфекции ограничивается двумя требованиями: идентификацией микрофлоры и определением ее чувствительности к ограниченному набору доступных антибиотиков. В настоящее время становится очевидным, что сведений о чувствительности бактерий к противомикробным препаратам недостаточно, и без более углубленного познания биологических свойств иницирующей микрофлоры невозможно организовать эффективное лечение гнойных заболеваний, тем более что определенная часть бактериальных клеток, образующих биопленку, остается устойчивой к действию антибиотика [3, 4].

Цель исследования. Сравнительный анализ клинико-бактериологических особенностей гнойно-некротических процессов у больных сахарным диабетом II типа и пациентов, не страдающих диабетом.

Материал и методы исследования. Обследованы 50 больных гнойно-некротическими процессами мягких тканей (флегмоны) в возрасте от 45 до 70 лет, находящихся на стационарном лечении, из них 25 пациентов, страдающих сахарным диабетом II типа, и 25 пациентов, не страдающих сахарным диабетом (контрольная группа). В исследование не включались пациенты с синдромом диабетической стопы, сепсисом. Все пациенты были прооперированы в день госпитализации, интраоперационно были получены биоптаты для бактериологического исследования, которое проводилось общепринятыми методами с идентификацией микроорганизмов до вида и определением гемолитической активности [5, 6]. Способность микроорганизмов формировать биопленки [7] оценивали фотометрическим способом (ELx808, BioTeK, США), исследования были проведены в трех сериях, в трех повторях. Количественное выражение способности микроорганизмов формировать биопленки рассчитывали по формуле [8]:

$СФБ = ОП_{опыт} / ОП_{контроль} - 1;$

где:

СФБ – способность формировать биопленки, условные единицы;

ОП_{опыт} – оптическая плотность опытной пробы;

ОП_{контроль} – оптическая плотность контрольной пробы;

l – поправочный коэффициент (в том случае, если ОП_{опыт} равна ОП_{контроль}, то СФБ равна 0).

Чувствительность к антибиотикам оценивали диско-диффузионным методом с использованием рекомендуемых наборов антибиотиков [9]. Дополнительно учитывались резистентность стафилококков к природным и полусинтетическим пенициллинам (за счет продукции плазмидных β-лактамаз класса А) и метициллинрезистентность (за счет наличия пенициллинсвязывающего белка ПСБ2а), обеспечивающая стафилококкам устойчивость ко всем β-лактамным антибиотикам. Клинически оценивали сроки появления грануляций на дне и стенках язв, а также краевой эпителизации, развитие осложнений, формирование гнойных затеков, прогрессирование некроза.

При статистической обработке полученных данных определяли среднюю арифметическую ряда (M), среднюю ошибку средней величины (m), коэффициент линейной корреляции Пирсона для оценки силы и направленности корреляционной связи между двумя изучаемыми явлениями [10].

Результаты исследования и их обсуждение. При первичном осмотре пациентов на дооперационном этапе было установлено, что клиническая картина гнойно-некротических процессов мягких тканей у больных сахарным диабетом II типа была менее манифестирующей, более сглаженной (табл. 1). Особенно обращает на себя внимание меньшая частота встречаемости болевого синдрома, что, возможно, частично связано с явлениями диабетической полинейропатии.

При проведении бактериологического исследования биоптатов, полученных от прооперированных пациентов, было выделено 104 штамма микроорганизмов. Значительную часть (46 штаммов) составили коагулазоположительные стафилококки *Staphylococcus aureus* (40 штаммов), *S. intermedius* (4 штамма), *S. huicus* (2 штамма); 24 штамма – коагулазонегативные стафилококки: *S. epidermidis* (7 штаммов), *S. haemolyticus* (7 штаммов), *S. hominis* (4 штамма), *S. warnerii* (3 штамма) другие (табл. 2).

Таблица 1

Симптоматика гнойно-некротических процессов мягких тканей обследованных больных
(частота выявления симптомов, %)

Клиническая симптоматика	Контрольная группа больных гнойно-некротическими процессами, n=25	Группа больных сахарным диабетом II типа, n=25
--------------------------	---	--

Локальная боль	92	60
Болезненность при пальпации	96	68
Локальная гиперемия	88	72
Местная гипертермия	60	50
Флюктуация	68	76
Напряжение тканей	56	44
Отек	92	84
Повышение температуры тела	76	58
Лихорадка с ознобом и проливающим потом	16	8

Заметную часть микробного пейзажа гнойно-некротических очагов составили энтеробактерии – 23 штамма (11 штаммов *Escherichia coli*, 4 – *Klebsiella pneumoniae*, 1 – *Providencia rettgeri*, 1 – *P. stuartii*, 2 – *Enterobacter spp.*, 3 – *Proteus mirabilis*), выделенные преимущественно в ассоциациях со стафилококками. Также были изолированы 5 штаммов *Streptococcus spp.* и 4 – *Enterococcus spp.*, причем последние – исключительно в ассоциациях со стафилококками и энтеробактериями. Два штамма *Pseudomonas aeruginosa* (в ассоциациях с энтеробактериями) были изолированы у больных сахарным диабетом (табл.). У 15 пациентов (из них 11 – не страдающие сахарным диабетом) микроорганизмы были изолированы в монокультуре (13 – *S. aureus* и 2 – *S. pyogenes*), а у остальных 35 выделены микробные ассоциации, что может представлять определенные сложности для выявления ключевого бактериального патогена [11]. Следует отметить, что стафилококки доминировали по частоте выявления (70 штаммов из 104) и были изолированы почти у всех больных (у 48 из 50 пациентов).

Таблица 2

Видовой состав возбудителей гнойно-некротических процессов мягких тканей (количество изолятов)

Вид микроорганизма	Группа больных сахарным диабетом II типа, n=25	Контрольная группа больных гнойно-некротическими процессами n=25
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	22
<i>S. intermedius</i>	2	2
<i>S. huicis</i>	2	-
<i>S. epidermidis</i>	4	3

<i>S. haemolyticus</i>	4	3
<i>S. hominis</i>	2	2
<i>S. capitis</i>	1	-
<i>S. warneri</i>	1	2
<i>S. cohnii</i>	1	-
<i>S. saprophyticus</i>	1	-
<i>Staphylococcus spp. (всего)</i>	36	34
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	1
<i>E. faecium</i>	-	1
<i>Enterococcus spp. (всего)</i>	2	2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	2
<i>S. mutans</i>	1	-
<i>Streptococcus spp. (всего)</i>	3	2
<i>Escherichia coli</i>	5	6
<i>Providencia stuartii</i>	1	-
<i>P. rettgeri</i>	-	1
<i>Proteus mirabilis</i>	2	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	2
<i>Enterobacter spp.</i>	1	1
<i>Enterobacteriaceae spp. (всего)</i>	12	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	-
Всего	55	49

При оценке антибиотикорезистентности выделенных изолятов стафилококков было установлено, что только 9 штаммов (13%) были чувствительны ко всем β-лактамным антибиотикам, включая пенициллин. Такие штаммы были изолированы преимущественно у пациентов контрольной группы. Более половины выделенных стафилококков (47 штаммов; 53%) характеризовались устойчивостью к природным и полусинтетическим пенициллинам (продукция β-лактамаз класса А), а 24 штамма (34%) были метициллинрезистентными (рис. 1).

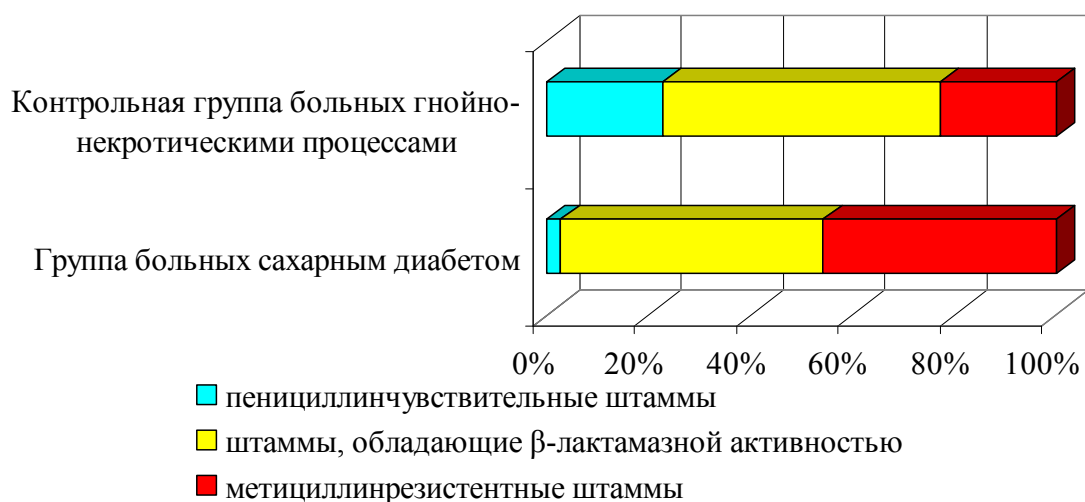


Рис. 1. Резистентность к β-лактамам антибиотикам стафилококков, изолированных у больных гнойно-некротическими процессами мягких тканей

Если стафилококки с резистентностью к природным и полусинтетическим пенициллинам в обеих группах встречались со схожей частотой (53% и 51%), то стафилококки, изолированные у больных сахарным диабетом II типа, значительно чаще были метициллинрезистентными (45,7% против 23,5%). Столь высокая частота выявления метициллинрезистентности может быть связана как с нерациональной антибиотикотерапией на догоспитальном этапе, так и с неконтролируемым применением β-лактамных антибиотиков больными в результате самолечения [12]. Учитывая частоту выявления стафилококков с различными формами резистентности к β-лактамным антибиотикам (рис. 1), можно утверждать, что эмпирическое применение этой группы препаратов у больных сахарным диабетом нецелесообразно. Однако у больных контрольной группы, не страдающих сахарным диабетом, возможно использование как ингибитор-защищенных аминопенициллинов, так и цефалоспоринов в качестве стартовой терапии. Штаммов, устойчивых к ванкомицину и линезолиду, не было выявлено. К фузидиевой кислоте были устойчивы два штамма *S. aureus* и один – *S. epidermidis*. К фторхинолонам и макролидам отмечена резистентность у 17 (24%) и 15 (21%) штаммов стафилококков соответственно. Рифампицин был активен в отношении 96% штаммов стафилококков.

Стафилококки, обладающие гемолитической активностью как одним из наиболее очевидных и показательных факторов вирулентности, наиболее часто выявлялись в контрольной группе пациентов (рис. 2) и заметно реже – у больных сахарным диабетом.

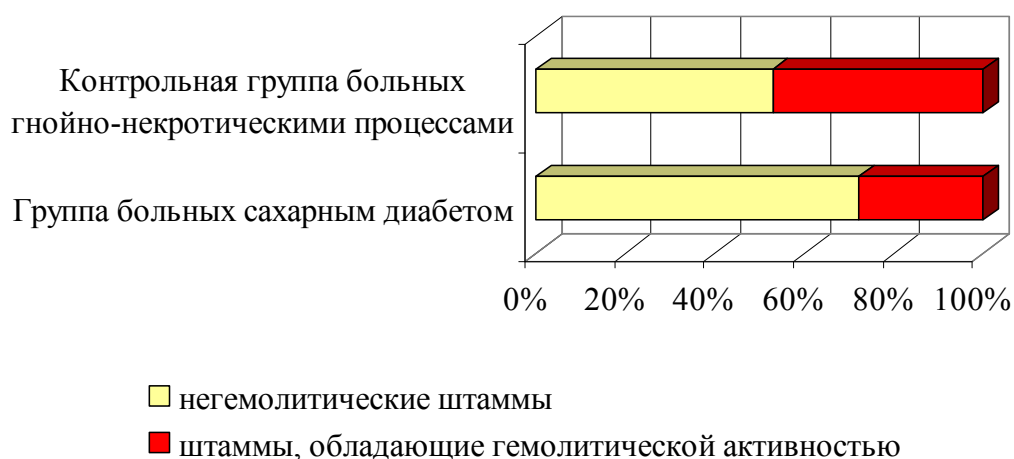


Рис. 2. Частота выявления у больных гнойно-некротическими процессами мягких тканей стафилококков с гемолитической активностью

Уровень способности формировать биопленки у стафилококков, выделенных из гнойно-некротических очагов у больных сахарным диабетом, составил в среднем $2,34 \pm 0,12$ у.е., а у пациентов контрольной группы был значительно ниже – $1,67 \pm 0,11$ у.е., ($p < 0,05$). Выявлена прямая корреляционная зависимость между выраженностью способности стафилококков формировать биопленки со сроками очищения очага хирургической инфекции (коэффициент линейной корреляции Пирсона $r = 0,67$), а также и сроками появления грануляций ($r = 0,61$). Полученные результаты согласуются с данными других исследователей, указывающих на сложность лечения инфекционных процессов, связанных с образованием возбудителями биопленок [13].

Заключение. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что ведущими возбудителями гнойно-некротических процессов мягких тканей у больных сахарным диабетом II типа являются стафилококки, изолированные у 96% пациентов. Следует отметить, что значимых отличий по видовому составу стафилококков, изолированных из очагов хирургической инфекции у больных сахарным диабетом и пациентов, не страдающих этой патологией, обнаружено не было. На важную роль стафилококков в развитии гнойных процессов при сахарном диабете, а также при синдроме диабетической стопы указывают ряд исследователей [14, 15]. Было установлено, что стафилококки, изолированные у больных сахарным диабетом II типа, реже обладали таким важным фактором вирулентности, как гемолитическая активность, по сравнению с пациентами, не страдающими сахарным диабетом. При этом указанные микроорганизмы

(выделенные у больных диабетом) чаще демонстрировали резистентность к β -лактамам антибиотикам, прежде всего метициллинрезистентность, что может быть следствием нерациональной антибиотикотерапии на догоспитальном этапе [12]. Стафилококки, изолированные у больных сахарным диабетом II типа, обладали более высокой способностью к формированию биопленок по сравнению с патогенами, выделенными у больных контрольной группы, что сопровождалось более медленным очищением очага хирургической инфекции и поздним появлением грануляций.

В целом следует отметить, что стафилококки, изолированные у больных сахарным диабетом II типа в ходе настоящего исследования, были менее агрессивными (по наличию гемолитической активности) и более защищенными (более высокая частота метициллинрезистентности, способность формировать биопленки), что сопровождалось более сглаженной клинической картиной гнойно-некротических процессов и увеличением сроков очищения раны и появления грануляций. Полученные результаты могут быть использованы для повышения качества диагностики и лечения гнойно-некротических процессов у больных сахарным диабетом II типа.

Список литературы

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: клиникостатистический анализ по данным Федерального регистра сахарного диабета // Сахарный диабет. 2017. Том 20(1). С. 13-41. DOI: 10.14341/DM8664.
2. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / Под ред. Дедова И.И., Шестаковой М.В., Майорова А.Ю. // Сахарный диабет. 2017. Том 20(1S). С. 1-112. DOI: 10.14341/DM20171S8.
3. Курлаев П.П., Гриценко В.А., Белозерцева Ю.П. Современные подходы к антибактериальной терапии гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2016. № 2. 13с. [Электронный ресурс]. URL: [http:// elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/KPP-2016-2.pdf](http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/KPP-2016-2.pdf) (дата обращения: 26.11.2018).
4. Тарасенко В.С., Фадеев С.Б., Бухарин О.В. Хирургическая инфекция мягких тканей (клинико-микробиологический аспект). Екатеринбург: УрО РАН, 2015. 180 с.
5. Скала Л.З., Сидоренко С.В., Нехорошева А.Г. с соавт. Практические аспекты современной клинической микробиологии. Тверь: «Триада», 2004. 312 с.

6. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Книга II // Под ред. Лабинской А.С. М.: Изд-во БИНОМ, 2012. 1152 с.
7. Kaplan J.B. Antibiotic-induced biofilm formation. *Int. J. Artificial Org.* 2011. Vol.34. P. 737-751. DOI:10.5301/ijao.5000027.
8. Фадеев С.Б. Хирургическая инфекция мягких тканей второго уровня, особенности этиотропной терапии: автореферат дис. ... докт. мед. наук. Оренбург, 2010. 48 с.
9. Определение чувствительности к антимикробным препаратам Диско-диффузионный метод EUCAST – Версия 6.0.(Январь 2017) www.eucast.org [Электронный ресурс]. URL: <http://www.antibiotic.ru/iacmac/ru/docs/eucast/eucast-disk-diffusion-manual-6.0-rus.pdf> (дата обращения: 26.11.2018).
10. Ланг Т.А., Сесик М. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов / пер. с англ. под ред. В.П. Леонова. М.: Практическая медицина, 2011. 480 с.
11. Dowd S.E., Wolcott R.D., Sun Y., McKeehan T., Smith E., Rhoads D. Polymicrobial nature of chronic diabetic foot ulcer biofilm infections determined using bacterial tag encoded FLX amplicon pyrosequencing (bTEFAP). *PLoS One.* 2008. Vol.3(10). e3326. DOI:10.1371/journal.pone.0003326.
12. Hashemi S., Nasrollah A., Rajabi M. Irrational antibiotic prescribing: a local issue or global concern? *EXCLI J.* 2013. №12. P. 384-395.
13. Wolcott R.D., Rhoads D.D. A study of biofilm-based wound management in subjects with critical limb ischaemia. *J. Wound Care.* 2008. Vol. 17(4). P. 145-148. DOI:10.12968/jowc.2008.17.4.28835.
14. Casqueiro J., Casqueiro J., Alves C. Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. *Indian J. Endocrinol. Metab.* 2012. Vol. 16. P. 27-36. DOI:10.4103/2230-8210.94253.
15. Dunyach-Remy C., Ngba Essebe C., Sotto A., Lavigne J.P. Staphylococcus aureus Toxins and Diabetic Foot Ulcers: Role in Pathogenesis and Interest in Diagnosis. *Toxins (Basel).* 2016. Vol. 8(7). P. 209. DOI: 10.3390/toxins8070209.