



В. П. Польовий,
БілеЛ Кхоршані,
І. Й. Сидорчук, Р. П. Кнут,
І. М. Плегуча, Р. І. Сидорчук,
А. С. Паляниця,
П. В. Кифяк, І. І. Білик

Буковинський державний
медичний університет,
м. Чернівці

© Колектив авторів

АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ТА АНТИФАГОЦИТАРНА АКТИВНІСТЬ ЗБУДНИКІВ ГНІЙНО-НЕКРОТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ М'ЯКИХ ТКАНИН ПРИ СИНДРОМІ СТОПИ ДІАБЕТИКА

Резюме. Метою дослідження є встановити чутливість до антибактеріальних препаратів основних збудників гнійно-некротичних процесів м'яких тканин при синдромі діабетичної стопи (СДС) та визначити їх вплив на фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів. Проведене мікробіологічне обстеження патологічного матеріалу взятого у 107 хворих на СДС, віднесених до 2–3 ступенів за класифікацією PEDIS, з легкою та помірною тяжкістю інфекції за IDSA. Визначали чутливість збудників до антибактеріальних препаратів та їх пригнічуючий вплив на параметри фагоцитозу. Більше половини виділених та ідентифікованих штамів *S. aureus* є резистентними стосовно ампіциліну, ванкоміцину, кліндаміцину, тетрацикліну, сульбактаму, стрептоміцину, метициліну, неоміцину. Більшість (> 50,0 %) клінічних штамів *S. aureus* зберігають чутливість стосовно гентаміцину, еритроміцину, ципрофлоксацину, гатифлоксацину, левофлоксацину, оксациліну, лінкоміцину і хлорамфеніколу. Збудники гнійно-некротичних процесів при СДС проявляють супресивну дію на систему фагоцитозу нейтрофільних гранулоцитів, пригнічуючи фагоцитарну активність, фагоцитарне число і фагоцитарну ємність периферійної крові хворих на СДС.

Ключові слова: синдром стопи діабетика, гнійно-некротичні процеси м'яких тканин, лікування, антибіотикорезистентність, імуносупресивна активність.

Вступ

Синдром стопи діабетика, або синдром діабетичної стопи (СДС) є одним з найпоширеніших хірургічних захворювань і характеризується не тільки високою частотою зустрічальності, але також високою інвалідизацією внаслідок ампутацій, негативними соціально-економічними наслідками [2, 7]. Серед основних етіопатогенетичних чинників СДС, поруч з метаболічним синдромом, нейропатією та судинними порушеннями, важливе значення має чинник мікробної контамінації, розвиток інфекційного процесу, порушення системного імунітету та неспецифічної резистентності організму хворого [5, 8].

Іншим важливим аспектом лікування СДС є антибіотикорезистентність та поява так званих «супербактерій» – мікроорганізмів, яким властива полірезистентність до різних антибактеріальних препаратів. При цьому, ряд авторів вказують на імуносупресивні властивості окремих збудників, що ще більше агравує проблему [3, 4]. Необхідність поглибленого вивчення таксономічного складу, популяційного рівня мікробіоти ексудату гнійно-некротичних процесів м'який тканин, їх чутливості до антибіотиків та інгібування фагоцитарної

активності нейтрофільних гранулоцитів та моноцитів визначає актуальність даного дослідження.

Мета досліджень

Встановити чутливість до антибактеріальних препаратів основних збудників СДС та визначити їх вплив на фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів.

Матеріали та методи досліджень

Проведене мікробіологічне обстеження патологічного матеріалу взятого із вогнищ гнійно-некротичних процесів м'яких тканин із 107 хворих на СДС, віднесених до 2–3 ступенів за класифікацією PEDIS, з легкою та помірною тяжкістю інфекції за IDSA [8]. Матеріал забирався при першому оперативному втручанні або при першій перев'язці до початку антибактеріальної терапії, піддавалися мікробіологічному обстеженню не пізніше 2-х годин після його забору. Визначення чутливості ізолюваних культур факультативних анаеробних та аеробних бактерій проводили методом дифузії в агар з використанням паперових дисків. Встановлення чутливості ізолюваних культур з анаеробним типом дихання щодо антибіо-

тиків проводили методом елюції дисків у напіврідких оптимальних середовищах. Метод дифузії в агар для облігатних анаеробних бактерій вважався орієнтовним [3, 6].

Популяції нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів периферійної крові обстежених осіб одержували методом центрифугування на подвійному градієнті фікол-верографіну, активність нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів периферійної крові досліджували чашковим методом. При цьому розраховували фагоцитарну властивість (ФА) – відсоток клітин, що бере участь у фагоцитозі і фагоцитарне число (ФЧ) – абсолютну кількість поглинутих стафілококів у середньому однією фагоцитарною клітиною [1]. Статистична обробка – методами варіаційної статистики.

Результати досліджень та їх обговорення

Виявлена низька чутливість виділених умовно патогенних бактерій – збудників СДС. Не виявлено жодного антимікробного препарату, до якого були би чутливі всі виділені штами стафілококів (табл. 1). Показана низька чутливість умовно патогенних бактерій – збудників гнійно-некротичних процесів м'яких тканин. Не виявлено жодного антимікробного препарату, до якого були би чутливі всі виділені штами стафілококів. Найбільша кількість ізолюваних штамів стафілококів, у тому числі *S. aureus* (провідний збудник), чутлива до левоф-

локсацину, еритроміцину, офлоксацину, гентаміцину, лінкоміцину.

Майже половина (48,15-59,26 %) виділених штамів стафілокока чутливі до ампіциліну, цiproфлораксацину, гатифлораксацину, тетрацикліну, оксациліну, неоміцину та хлорамфеніколу, а до ванкоміцину, кліндаміцину і сульбактаму резистентними були відповідно 87,65, 92,59 та 83,95 %. Усі виділені штами *S. pyogenes* є чутливими до гатифлораксацину, *P. aeruginosa* – стосовно гентаміцину, пептострептококи – до оксациліну та хлорамфеніколу. До останнього були чутливими всі виділені штами *B. fragilis* та *P. melaninogenicus*.

Наступним етапом дослідження стало вивчення впливу імуносупресивної (протифагоцитарної) активності збудників СДС на показники системи фагоцитозу нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові (табл. 2).

Факультативні анаеробні та аеробні грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також облігатні анаеробні грампозитивні і грамнегативні бактерії різним ступенем пригнічують фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів на перших фазах процесу фагоцитозу, що призводить до пониження кількості активних фагоцитуючих нейтрофільних гранулоцитів та фагоцитарної ємності периферійної крові. Супресія системи фагоцитозу залежить від таксону, що формує гнійно-некротичний процес. Так, провідний збудник гнійно-

Таблиця 1

Чутливість умовно патогенних бактерій (провідних збудників СДС) до антибіотиків

Антибактеріальні препарати	Кількість чутливих штамів стосовно всіх ізолюваних штамів певного таксону					
	Стафілококи (%), 8 штамів*	Стрептококи, 5 штамів**	Ентеробактерії, 15 штамів**	Псевдомонади, 3 штами**	Анаероби	
					Грампозитивні, 6 штамів**	Грамнегативні, 8 штамів**
Ампіцилін	48,15	1	3	1	5	7
Гентаміцин	65,43	3	12	3	1	1
Ванкоміцин	12,35	0	0	0	0	0
Еритроміцин	72,84	1	7	2	4	5
Кліндаміцин	7,41	2	3	2	1	1
Цiproфлораксацин	51,85	4	7	2	2	1
Гатифлораксацин	54,32	5	9	1	1	2
Леволораксацин	74,07	3	11	2	2	3
Офлораксацин	69,14	4	10	2	3	4
Тетрациклін	19,38	0	2	1	2	2
Сульбактам	16,05	1	13	2	1	1
Стрептоміцин	41,98	3	9	2	1	1
Поліміксин	-	1	4	1	0	1
Оксацилін	59,26	2	7	1	6	7
Олеандоміцин	46,91	2	6	1	1	1
Лінокміцин	60,49	1	10	2	4	3
Хлорамфенікол	54,32	1	11	2	6	8
Метиліцин	39,51	2	4	1	4	2
Неоміцин	49,38	5	13	2	1	1

Примітки. * відносна кількість чутливих штамів до відповідного антибіотика; ** абсолютна кількість чутливих штамів до виділених ізолятів у хворих.



Таблиця 2

Вплив умовно патогенних бактерій-збудників на фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів при СДС

Таксони мікробіоти	Фагоцитарне число	Фагоцитарна активність (%)	Кількість активних фагоцитів крові ($\times 10^9/л$)	Фагоцитарна ємність крові ($\times 10^9/л$)
Контроль (практично здорові особи)	3,02±0,11	5,72±1,87	3,29±0,67	18,82±0,55
Факультативні анаеробні та аеробні бактерії				
1.1. Грампозитивні бактерії				
<i>S. aureus</i>	1,72±0,88**	33,08±1,27**	1,99±0,37	11,38±0,81**
<i>S. epidermidis</i>	2,19±0,12*	42,97±1,97*	2,58±0,39	14,78±0,87*
<i>S. intermedius</i>	2,27±0,13*	45,98±2,32*	2,76±0,48	15,81±0,47*
<i>S. haemolyticus</i>	2,21±0,14*	46,45±2,11**	2,79±0,43	15,98±0,91*
<i>S. saprophyticus</i>	2,72±0,15	48,51±2,81	2,92±0,51	16,68±0,94
<i>S. pyogenes</i>	1,57±0,08**	34,01±1,67**	2,04±0,33	11,70±0,78**
1.2. Грамнегативні бактерії				
<i>P. vulgaris</i>	2,15±0,11**	41,89±2,12*	2,52±0,43	14,41±0,94*
<i>E. coli</i>	2,47±0,12*	47,12±2,27*	2,83±0,41	16,21±1,03*
<i>E. cloacae</i>	2,27±0,14*	46,22±2,33*	2,78±0,54	15,90±0,99*
<i>P. aeruginosa</i>	1,82±0,10**	39,07±1,89**	2,35±0,37	13,44±0,79**
Облігатні анаеробні бактерії				
Грамнегативні бактерії				
<i>P. magnus</i>	2,47±0,14*	42,13±2,05*	2,53±0,43	14,49±1,21*
<i>P. anaerobius</i>	2,42±0,13*	40,67±1,97*	2,45±0,36	13,99±6,17**
Грамнегативні бактерії				
<i>B. fragilis</i>	2,04±0,99**	40,03±1,78**	2,41±0,33*	13,77±1,21*
<i>B. melaninogenicus</i>	1,73±0,10**	35,69±1,77**	2,15±0,31**	12,27±0,97*

Примітки. * – P<0,05; ** – P<0,01.

некротичних процесів при СДС – коагулазо-позитивний *S. aureus* призводить до пониження захоплюючої активності нейтрофільних гранулоцитів на 75,58 %, ФА – на 65,54 %, що призводить до суттєвого (на 65,33 %) зниження кількості активних фагоцитарних нейтрофільних гранулоцитів та фагоцитарної ємності периферійної крові на 65,38 %.

Найбільша інгібуюча дія на процес захоплення фагоцитуючих часточок виявлена у *S. pyogenes* (зниження ФЧ на 92,36 %), *S. aureus* (на 75,58 %), *P. melaninogenicus* (на 74,75 %), *P. aeruginosa* (на 65,93 %), *B. fragilis* (на 36,70 %), *P. anaerobius* (на 34,55 %). Низька супресивна дія на ФА нейтрофільних гранулоцитів встановлена в *E. coli* (на 16,13 %), *S. haemolyticus* (на 17,80 %), *E. cloacae* (на 18,39 %), *S. intermedius* (на 19,01 %).

Високий рівень пониження фагоцитарної ємності периферійної крові хворих на СДС відбувається за персистенції *S. aureus* (зниження на 65,38 %), та *S. pyogenes* – на 60,85 %, а також за *P. melaninogenicus* – на 53,38 %, *P. aeruginosa* – на 40,03 %, *P. anaerobius* – на 34,52 %, *B. fragilis* – на 36,67 %. Зниження фагоцитарної ємності периферійної крові відбувається за персистенції всіх таксонів, за виключенням персистенції

у рановому біоптаті *S. saprophyticus*. Персистенція останнього формує тенденцію до зниження (на 12,83 %, P>0,05) фагоцитарної ємності периферійної крові хворих.

Висновки

1. Більше половини виділених та ідентифікованих штамів *S. aureus* є резистентними стосовно ампіциліну, ванкоміцину, кліндаміцину, тетрацикліну, сульбактаму, стрептоміцину, метициліну, неоміцину.

2. Більшість (>50,0 %) клінічних штамів *S. aureus* зберігають чутливість стосовно гентаміцину, еритроміцину, ципрофлоксацину, гатифлоксацину, левофлоксацину, оксациліну, лінкоміцину і хлорамфеніколу.

3. Умовно патогенні бактерії – збудники гнійно-некротичних процесів при СДС проявляють супресивну дію на систему фагоцитозу нейтрофільних гранулоцитів, понижуючи фагоцитарну активність, фагоцитарне число і фагоцитарну ємність периферійної крові хворих.

Перспективи подальших досліджень. Планується розробити комплекс заходів щодо лікування і профілактики СДС з урахуванням отриманих результатів.



ЛІТЕРАТУРА

1. Долгунин И.И., Бухарин О.В. Нейтрофилы и гомеостаз. – Екатеринбург: Уфо РАН, 2001. – 284 с.
2. Павлович К.В., Сидорчук Р.І. Використання ін'єкційного матеріалу для регенерації шкіри лацерта® для лікування трофічних виразок у хворих при синдромі діабетичної стопи // Клін. хірургія. – 2015. – №7. – С. 44-46.
3. Патогенетичні аспекти антибіотикотерапії за хірургічної інфекції / За ред. В.В. Бойко, В.П. Польового. – Харків-Чернівці: Медуніверситет, 2018. – 283 с.
4. Сидорчук Л.І. Видовий склад, популяційний рівень та мікроскопічні показники і ступінь порушень мукозної мікробіоти товстої кишки білих щурів з експериментальним цукровим діабетом / Л.І. Сидорчук // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2013. – Т. 8, № 2. – С. 98-104
5. Сидорчук Р.І. Таксономічний склад та мікроекологічні показники збудників гнійно-запальних процесів шкіри та підшкірної клітковини / Сидорчук Р.І., Хомко О.Й., Кнут Р.П. [та ін.] // Хірургія України. – 2018. – №4. – С. 54-56.
6. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd Ed. Vol. 2 / Eds. Don J. Brenner, Noel R. Krieg, James R. Staley. pringer Science & Business Media, 2007. – 1106 p.
7. Chen S.Y. Invasive Systemic Infection After Hospital Treatment for Diabetic Foot Ulcer: Risk of Occurrence and Effect on Survival / Chen S.Y., Giurini J.M., Karchmer A.W. // Clin Infect Dis. – 2017. – Vol. 64(3). – P. 326-334.
8. Nelson A. CODIFI (Concordance in Diabetic Foot Ulcer Infection): a cross-sectional study of wound swab versus tissue sampling in infected diabetic foot ulcers in England / Nelson A., Wright-Hughes A., Backhouse M.R. [et al.] // BMJ Open. – 2018. – Vol.8 (1). – e019437.



АНТИБИОТИКО-РЕЗИСТЕНТНОСТЬ И АНТИФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПРИ СИНДРОМЕ СТОПЫ ДИАБЕТИКА

В. П. Полевой, Билел Кхоршани, И. И. Сидорчук, Р. П. Кнут, И. М. Плегуща, Р. И. Сидорчук, А. С. Паляница, П. В. Киляк, И. И. Билык

Резюме. Целью исследования является установить чувствительность к антибактериальным препаратам основных возбудителей гнойно-некротических процессов мягких тканей при синдроме диабетической стопы (СДС) и определить их влияние на фагоцитарную активность нейтрофилов. Проведённое микробиологическое обследование патологического материала взятого в 107 больных СДС, отнесённых к 2-3 степени по классификации PEDIS, с лёгкой и умеренной тяжестью инфекции по IDSA. Определяли чувствительность возбудителей к антибактериальным препаратам и их угнетающее влияние на параметры фагоцитоза. Более половины выделенных и идентифицированных штаммов *S. aureus* резистентны относительно ампициллина, ванкомицина, клиндамицина, тетрациклина, сульбактама, стрептомицина, метициллина, неомицина. Большинство (>50,0 %) клинических штаммов *S. aureus* сохраняют чувствительность относительно гентамицина, эритромицина, ципрофлоксацина, гатифлоксацина, левофлоксацина, оксациллина, линкомицина и хлорамфеникола. Возбудители гнойно-некротических процессов при СДС проявляют супрессивное воздействие на систему фагоцитоза нейтрофилов, подавляя фагоцитарную активность, фагоцитарное число и фагоцитарную ёмкость периферической крови больных СДС.

Ключевые слова: синдром стопы диабетика, гнойно-некротические процессы мягких тканей, лечения, антибиотикорезистентность, иммуносупрессивная активность.

ANTIBIOTIC RESISTANCE AND ANTIPHAGOCYtic ACTIVITY OF SOFT TISSUES PURULENT-NECROTIC PROCESSES PATHOGENS IN DIABETIC FOOT SYNDROME

V. P. Polyovyy, Bilel Khorshani, I. I. Sydorshuk, R. P. Knut, I. M. Plehutsa, R. I. Sydorshuk, A. S. Paljanica, P. V. Kifjak, I. I. Bilik

Summary. The aim of the study is to establish the sensitivity to antibacterial drugs of the main pathogens of the purulent-necrotic processes of soft tissues in diabetic foot syndrome (DFS) and to determine their effect on the phagocytic activity of neutrophils. Conducted microbiological examination of pathological material obtained in 107 patients with DFS, classified to grade 2-3 according to the PEDIS classification, with mild to moderate severity of infection according to IDSA. The sensitivity of pathogens to antibacterial drugs and their inhibitory effect on phagocytosis parameters were determined. More than half of the isolated and identified strains of *S. aureus* are resistant to ampicillin, vancomycin, clindamycin, tetracycline, sulbactam, streptomycin, methicillin, and neomycin. The majority (>50.0 %) of clinical strains of *S. aureus* remain sensitive to gentamicin, erythromycin, ciprofloxacin, gatifloxacin, levofloxacin, oxacillin, lincomycin and chloramphenicol. The causative agents of purulent-necrotic processes in DFS spresent suppressive effect on the neutrophil phagocytosis system, suppressing phagocytic activity, phagocytic number, and phagocytic capacity of the peripheral blood of patients with DFS.

Key words: diabetic foot syndrome, purulent-necrotic processes of soft tissues, treatment, antibiotic resistance, immunosuppressive activity.