مجله غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات‌بهداشتی- درمانی شهید بهشتی
سال اول، شماره ۱، صفحات ۱۱-۱۸ (بهار ۱۳۷۸)

باکتریولوژی زخم‌های پای دیابتی

آرزو طاهرپور، دکتر یحیی همتی و دکتر فریدون عزیزی
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی

خلاصه

تعداد ۶۰ بیمار دیابتی (۳۲ زن و ۲۸ مرد با میانگین سن ۵۸/۹ سال)، با عفونت زخم پا (میانگین مدت ابتلاء به زخم پا ۸/۸ ماه)، مورد مطالعه باکتریولوژیک قرار گرفتند. مدت ابتلاء به دیابت در بیماران ۱۵/۵ سال بود که تعداد ۴۹ نفر (۸۸/۷ درصد) از آنان، دیابت تیپ II داشتند. قبل از کشت، زخم‌ها توسط آب اکسیژنه ۳% تمیز گردیدند و نمونه گیری توسط دو نوع سواب استریل انجام شد. از محیط‌های انتقال، تایوگلیکولات نیمه جامد، نوترین برات یا میحط Cary-Blair و محیط‌های کشت نوترین آگارو بلاد آگار و EMB استفاده گردید. از ۶۰ زخم، ۵۸ زخم، کشت مثبت و دو زخم، از نظر باکتریولوژیک منفی بودند. به طور متوسط، هر زخم دارای ۲/۹ نوع باکتری (با حداکثر ۵ نوع باکتری) بود؛ بیشتر زخم‌ها (۹۰ درصد)، پلی‌میکروبی بودند. کوکسی‌های گرم مثبت هوازی، از زخم (۹۱/۶ درصد) ۵۵ بیمار باسیل‌های گرم منفی هوازی، از زخم (۷۰ درصد) ۴۲ نفر، باسیل‌های گرم مثبت هوازی، از (۴۰ درصد) ۲۴ بیمار و باکتری‌های بی‌هوازی از (۳۳/۳ درصد) ۲۰ بیمار جدا گردیدند. استافیلوکوکوس اوره‌ئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در بین کوکسی‌های گرم مثبت هوازی، E-coli و کلبسیلا پنومونیه، در بین باسیل‌های گرم منفی هوازی، باسیلوس سره‌ئوس و دیفتروئید در گروه باسیل‌های گرم مثبت هوازی و بالاخره پپتواستروپتوکوکوس و باکتروئیدس فراژیلیس، در باکتری‌های بی‌هوازی، بیشترین فراوانی را داشتند. میانگین تعداد کوکسی‌های هوازی، باسیل‌های گرم مثبت هوازی و باکتری‌های بی‌هوازی، در گروهی که در هنگام بررسی باکتریولوژیک، آنتی‌بیوتیک دریافت کرده بودند (۳۸ نفر)، در مقایسه با گروهی که آنتی‌بیوتیک دریافت نکرده بودند (۲۲ نفر)، کمتر بود ($P< ۰/۰۵$)؛ در حالی که میانگین تعداد باسیل‌های گرم منفی در گروه آنتی‌بیوتیک دریافت کرده (۶۴± ۰/۸۴ باکتری) با گروه آنتی‌بیوتیک دریافت نکرده (۰/۶۶±۰/۸۲ باکتری) تفاوتی نداشت ($P> ۰/۰۵$). از این مطالعه چنین نتیجه‌گیری می‌شود که عفونت پا در افراد دیابتی، بصورت پلی‌میکروبی بوده و به نظر می‌رسد که حضور سوش‌های باسیل‌های گرم منفی مقاوم به آنتی‌بیوتیک در این بیماران روبه افزایش است.

واژگان کلیدی: باکتری‌های بی‌هوازی، کوکسی‌ها، باسیل‌ها، پای‌دیابتی.

مقدمه

دیابت یکی از عوامل شایع آمپوتاسیون در سراسر دنیا است این بیماری عامل ۵۱ درصد از آمپوتاسیون‌های اندام‌های تحتانی می‌باشد.

براساس آمار موجودد، پانزده درصد از افراد دیابتی، دچار زخم در ناحیه پا در طول حیات خود می‌شوند (۲)، ایجاد عفونت زخم‌های پای دیابتی یکی از عواقب پیشرونده و معضل درمانی این بیماران بوده که منتهی به آمپوتاسیون می‌شود. در این بیماران، نقص در سیستم ایمنی، نوروپاتی و نارسائی عروق، دست به دست هم داده و موجب پیشرفت عفونت در زخمهای پای دیابتی می‌شوند از این رو، حتی جزئی‌ترین عفونت می‌تواند فاجعه‌آمیز باشد (۲). هرچند که آنتی‌بیوتیک نمی‌تواند جایگزین مراقبت از زخم همراه با درناژ و دبریدمان وسیع و مناسب در عفونت پای دیابتی باشد؛ اما درمان آنتی‌بیوتیکی مناسب با آگاهی از باکتریولوژی این زخمها می‌تواند میزان آمپوتاسیون در بیماران دیابتی را کاهش دهد. ارگانیسم‌های عفونت‌زا در پای دیابتی شامل کوکسی‌های گرم مثبت، باسیل‌های گرم منفی (E.coli، کلبسیلا و پروتئوس) و باکتری‌های بی‌هوازی (گونه‌های باکتروئید و پپتواستریتکوکوس) می‌باشند (۳).

هدف این پژوهش، شناخت باکتریولوژی عفونت زخم‌های پای دیابتی در بیمارستانها و مراکز درمانی مهم تهران است تا با این آگاهی، پزشکان معالج بتوانند، تصمیم صحیحی در تجویز آنتی‌بیوتیک مناسب اتخاذ نمایند تا از آمپوتاسیون جزئی و یا حتی در موارد پیشرفته، از آمپوتاسیون پیشرفته جلوگیری کنند.

روش کار

زخم‌های پای دیابتی به درجات زیر تقسیم می‌شود:

درجه صفر: زخمهای سر باز وجود ندارد.

درجه یک: فقق پوست دچار آسیب و زخم شده است.

درجه دو: تاندون و کپسول موضعی، هر کدام به تنهایی، دچار جراحت شده باشند.

درجه سه: زخم به اطراف استخوان گسترش یافته و معمولاً سبب استئومیلیت می‌شود.

درجه چهار: گانگرن موضعی ایجاد شده باشد.

درجه پنج: گانگرن، قسمت اعظم پای بیمار را مبتلا کرده است.

در این پژوهش، منظور از زخم‌های پای دیابتی، زخم‌های پا با درجات از یک تا پنج بوده و تفکیک نشده‌اند. نمونه‌گیری از زخم‌های پا، از بیماران دیابتی مراجعه کننده به بیمارستان‌های امام خمینی، شهدا، طالقانی، امیرالمؤمنین (ع)، لقمان و انستیتو غدد در تهران، در سال ۱۳۷۵، بعمل آمد. بدین ترتیب که، سطح زخم توسط آب اکسیژنه ۳ درصد تمیز گردید و نمونه‌گیری توسط دو نوع سواب استریل انجام شد. یک نوع شامل دو سواب استریل معمولی (که در لوله استریل قرار داشت) - یکی برای نمونه‌گیری از باکتری‌های هوازی و قرار دادن آن در محیط انتقال، دیگری جهت تهیه اسمیر در محل نمونه‌گیری- و نوع دیگر یک سواب بود که در محیط تایوگلیکولات مایع قرار داشت (محیط تایوگلیکولات مایع جوشانده شده بود تا هوای بین حفره‌های پنبه سرسواب خارج و حتی‌الامکان سواب عاری از هوا گردد، لوله‌هایی که این سوابها در آن قرار داشتند از نوع در پیچ دار بودند) و از آن برای نمونه‌گیری از باکتری‌های بی‌هوازی استفاده شد. محیط‌های لازم جهت انتقال نمونه‌ها به بخش میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه شهید

بهشتی، شامل تایوگلیکولات نیمه جامد، نوترین برات یا محیط Cary Blair بودند.

در آزمایشگاه از سه نوع محیط کشت، نوترین آگار، بلاد آگار و EMB استفاده گردید. بدین ترتیب که توسط سواب موجود در لوله محیط انتقال باکتری‌های هوازی، مقداری از نمونه را در کنار سه پلیت حاوی محیطهای فوق‌الذکر قرار و توسط آنسن حلقوی به روش Streak کشت داده و پلیت‌ها را در آنکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد بمدت ۲۴-۴۸ ساعت نگهداری کردیم. از کلنی‌های حاصله لام تهیه کرده و به روش گرم رنگ‌آمیزی کردیم، ضمناً مشاهدات خود را با اسمیر مستقیمی که قبلاً به روش گرم، رنگ شده بود، مقایسه نمودیم تا از عدم آلودگی محیط کشت؛ باکتری‌های دیگر اطمینان حاصل نمائیم. بعد با توجه به کوکسی یا باسیل و گرم منفی یا گرم مثبت بود باکتری‌ها، تست‌ها و محیطهای افتراقی مناسب را انتخاب کردیم.

به منظور غنی‌سازی باکتریهای بی‌هوازی موجود در نمونه بالینی، لوله‌های سواب تایوگلیکولات مایع را به مدت ۲۴ ساعت در آنکوباسیون ۳۷ درجه سانتیگراد قرار و همانند تکنیک فوق‌الذکر، بر روی پلیت‌های نوترین آگار، بلاد آگار و EMB کشت دادیم. سپس، هر سه پلیت را به همراه Gaspak (محصول کارخانه BBL)، در محفظه‌ای بنام anaerobic jar قرار دادیم. پس از ۴۸ ساعت آنکوباسیون در ۳۷ درجه سانتیگراد، پلیت‌ها بررسی و چنانچه کلنی رشد نکرده بود، مجدداً آن را به محفظه بیهوازی برگردانده و جهت اطمینان، بمدت یک هفته دیگر آن را آنکوبه می‌کردیم. جهت تائید بی‌هوازی مطلق بودن باکتری‌ها، سه سری کشت در سه شرایط محیطی متفاوت، یعنی در anaerobic jar، Candle jar و محیط هوازی انجام گردید و بدین ترتیب، رشد باکتری که آیا بیهوازی مطلق یا میکروآئروتولرنت یا بیهوازی اختیاری بود بررسی شد. در ضمن، برای تائید بیهوازی مطلق بودن باکتری، از همان کلنی به محیط تایوگلیکولات مایع نیز تلقیح و بمدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد آنکوبه نمودیم. باکتری‌های هوازی مطلق، بصورت یک ورقه در سطح محیط، میکروآئروفیلها نزدیک به سطح، هوازی بیهوازی‌های اختیاری در سراسر محیط و باکتری‌های بی‌هوازی مطلق، تنها در انتهایی‌ترین بخش محیط رشد می‌کنند. در مورد باکتری‌های بیهوازی نیز با توجه به مرفولوژی باکتری و واکنش گرم آنها، تست‌های افتراقی گذاشته شدند.

نتایج

الف: اطلاعات بالینی

طی ۹ ماه مراجعه به مراکز درمانی منتخب در تهران، ۶۰ بیمار دیابتی مبتلا به عفونت پا، مورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد ۳۲ نفر (۵۳/۳ درصد) زن و ۲۸ نفر (۴۶/۷ درصد) مرد بودند؛ ۵۳ بیمار به NIDDM مبتلا بودند.

متوسط سن بیماران ۵۸/۹ سال (از ۳۲ تا ۸۵ سال) و مدت ابتلا به دیابت، به طور متوسط، ۱۵/۵ سال (از یک ماه تا ۳۶ سال) و متوسط دوره ابتلا به زخم پا، ۸/۸ ماه (از ۲ روز تا ۵ سال) بود. در هنگام نمونه‌برداری، تعداد ۳۸ نفر (۶۳/۳ درصد) از بیماران آنتی‌بیوتیک دریافت کرده بودند.

ب: باکتریولوژی

از زخم ۵۵ بیمار (۹۱/۶ درصد) کوکسی گرم مثبت هوازی، از ۴۲ نفر (۷۰ درصد) باسیل گرم منفی هوازی، از ۲۴ نفر (۴۰ درصد) باسیل گرم مثبت هوازی

و از ۲۰ نفر (۳۳/۳ درصد) باکتری‌های بیهوازی به دست آمد و در دو مورد نیز کشت‌ها منفی بودند (جدول ۱).

به طور متوسط، هر زخم دارای ۲/۹ نوع باکتری (با حداکثر ۵ نوع باکتری) بود؛ بیشتر زخم‌ها (۹۰ درصد)، پلی‌میکروبی بودند. از ۱۷۲ باکتری جدا شده، ۷۴ باکتری (۴۳ درصد) کوکسی گرم مثبت هوازی، ۵۰ باکتری (۲۹ درصد) باسیل گرم منفی هوازی، ۲۷ باکتری ۱۶۰ درصد) باسیل گرم مثبت هوازی و ۲۱ باکتری (۱۲ درصد) بیهوازی بودند.

در گروه کوکسی‌های گرم مثبت هوازی: S. aureus، S. epidermidis و Streptococcus group B به ترتیب با ۵۹/۴، ۲۰/۳ و ۸ درصد بیشترین فراوانی را داشتند (جدول ۲).

در گروه باسیل‌های گرم منفی هوازی: E.coli، Proteus mirabilis و Klebsiella pneumoniae به ترتیب با ۴۶، ۱۴ و ۱۴ درصد بیشترین فراوانی را در این گروه بخود اختصاص دادند (جدول ۳). در باسیل‌های گرم مثبت هوازی: B.cereus، Diphtheroides و B.Coagulans به ترتیب با ۳۳/۳، ۱۸/۵ و ۱۵ درصد اولین تا سومین میزان فراوانی را در این گروه داشتند (جدول ۴). در بین باکتری‌های بیهوازی: Peptostreptococcus، Bacteroides fragilis و peptococcus به ترتیب با ۳۳/۳، ۲۳/۸ و ۱۹ درصد دارای بیشترین فراوانی بودند (جدول ۴).

جدول ۱) فراوانی باکتری‌های جدا شده از زخم‌های پای‌دیابتی برحسب مورفولوژی

مورفولوژی باکتری‌ها	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی (%)
کوکسی‌های گرم مثبت هوازی	۵۵	۹۱/۶
باسیل‌های گرم منفی هوازی	۴۲	۷۰
باسیل‌های گرم مثبت هوازی	۲۴	۴۰
باکتری‌های بی‌هوازی	۲۰	۳۳/۳

جدول ۲) فراوانی کوکسی‌های گرم مثبت جدا شده از زخم‌های پای‌دیابتی

کوکسی‌های گرم مثبت هوازی	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی (%)
Staphylococcus	۴۴	۵۹/۴
S. epidermidis	۱۵	۲۰/۳
Sterptococcus group B	۶	۸/۰
Sterptococcus group A	۳	۴/۰
Enterococcus faecalis	۵	۷/۰
Micrococcus luteus	۱	۱/۳
جمع	۷۴	۱۰۰

جدول ۳) فراوانی باسیل‌های گرم منفی هوازی جدا شده از زخم‌های پای‌دیابتی

باسیل‌های گرم منفی هوازی	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی (%)
E. coli	۲۳	۴۶
Proteus mirabilis	۷	۱۴
P. vulgaris	۳	۶
Klebsiella pneumoniac	۷	۱۴
K. Oxytoka	۲	۴
Pseudomonas aeroginosa	۵	۱۰
Serratia marcescens	۲	۴
Citrobacter freundii	۱	۲
جمع	۵۰	۱۰۰

جدول ۴) فراوانی باسیل‌های گرم مثبت هوازی و باکتری‌های بی‌هوازی جدا شده از زخم‌های پای‌دیابتی

باکتری	فراوانی مطلق
Bacillus cereus	۹
B. Coagulans	۵
B. Polymyxa	۴
Diphtheroids	۹
Peptostrptococcus	۷
Peptococcus	۴
Bacteroides fragilis	۵
B. melaninogenicus	۱
Propionibacterium acnes	۱
Lactobacillus	۱
Veillonella	۱
Clostridium perfringens	۱
جمع	۴۸

میانگین تعداد کوکسی‌های هوازی جدا شده در گروه آنتی‌بیوتیک دریافت کرده (۳۸ نفر) و نکرده (۲۲ نفر) به ترتیب ۱/۱±۰/۶۱ و ۱/۴۵±۰/۵۹ باکتری (P< ۰/۰۵)؛ میانگین تعداد باسیل‌های گرم مثبت هوازی در این دو گروه به ترتیب ۰/۲۶±۰/۴۴ و ۰/۷۷±۰/۶۱ باکتری (P< ۰/۰۰۰۱)؛ میانگین تعداد باکتری‌های بی‌هوازی در همین دو گروه به ترتیب ۰/۲۱±۰/۴۱ و ۰/۵۹±۰/۵۹ (P< ۰/۰۱) بود؛ در حالی که، میانگین تعداد باسیل‌های گرم منفی در گروه آنتی‌بیوتیک دریافت کرده (۰/۸۴±۰/۶۴ باکتری) با گروه آنتی‌بیوتیک دریافت نکرده (۰/۸۲±۰/۶۶ باکتری) تفاوتی نداشت (P> ۰/۰۵)؛ به عبارتی دیگر، مصرف آنتی‌بیوتیک، تنها در این گروه از باکتری‌ها، نقشی نداشته است.

بحث

در این مطالعه، ۹۰ درصد از عفونت‌های زخم‌های پای دیابتی پلی‌میکروبی بودند که از این نظر مشابه نتایج مطالعات دیگر می‌باشد (۴). در بیماران ما، متوسط باکتری‌های جدا شده، ۲/۹ نوع باکتری در هر زخم (حداکثر تا ۵ نوع باکتری) بود که این میزان در پژوهش‌های لوئی (۵) و لاوری (۶) گیبونس (۵)، به ترتیب ۵/۸، ۲/۷ و ۳ گزارش گردید؛ با توجه به درصد نسبتاً بالای مصرف آنتی‌بیوتیک در بیماران ما (۶۳/۳ درصد) متوسط نوع باکتری‌های جدا شده نسبت به مطالعات دیگر از خود کاهش نشان می‌دهد.

عفونت پلی‌میکروبی از این نظر مهم می‌باشد که باکتری‌های هوازی گرم مثبت (مانند استافیلوکوکوس آئروس یا استرپتوکوکوس‌ها) یا گرم منفی‌ها (مانند خانواده انتروباکتریاسه یا سودوموناس) در سینرژیسم با باکتری‌های بیهوازی (مانند پپتوکوکوس، پپتواسترپتوکوکوس و باکتروئیدیس) می‌توانند عفونت‌های جدی و مرگ‌زا در بافت‌های نرم بدن تولید کنند؛ زیرا باکتری‌های هوازی از اکسیژن محدود این بافت‌ها که دچار نارسائی خونی هستند استفاده کرده و امکان رشد باکتری‌های بیهوازی را فراهم می‌آورند و در نتیجه این پدیده یک عفونت ساده به عفونتی پایدار و مخرب تبدیل می‌گردد (۷).

خانواده انتروباکتریاسه بین ۲۴ تا ۲۷ درصد از ارگانیسم‌های جدا شده از زخم‌های پای دیابتی را شامل می‌شود که می‌توان از پروتئوس، کلبسیلا و گونه‌های آنتروباکترو E.coli نام برد (۴ و ۸). در مطالعه ما باسیل‌های گرم منفی ۲۹ درصد از باکتری‌های جدا شده را شامل می‌شود که E.coli، پروتئوس، کلبسیلا شایعترین باکتری‌ها در این گروه بودند.

در بین کوکسی‌های مثبت هوازی، استافیلوکوکوس آئروس و در میان باکتری‌های بیهوازی، کوکسی‌های گرم مثبت مانند پپتواسترپتوکوکوس و پپتوکوکوس، و باکتریوئیدیس‌ها، بیشترین فراوانی را داشتند که با نتایج حاصل از مطالعات دیگر مطالقت دارد (۴ و ۹).

نکته مهم، جداسازی باسیل‌های گرم مثبت هوازی به میزان ۱۶ درصد بود که در بین مطالعات صورت گرفته تنها در سال ۱۹۷۶ توسط لوئی به آن اشاره شده است (۵). علت این مسئله، علاوه به مزمن و نهفته بودن زخم پا، می‌تواند عدم زمان‌بندی مناسب بین تعویض پانسمان زخم پا و نظافت اطاق بیمار باشد؛ این دسته از باکتری‌ها از بیماران دو بیمارستان، بیش از سایر مراکز درمانی جدا گردید.

در این مطالعه مشخص شد که میانگین تعداد باکتری‌ها، بجز باکتری‌های گرم منفی، در افراد با عفونت زخم پای دیابتی که آنتی‌بیوتیک دریافت کرده‌اند در مقایسه با آنان که این دارو دریافت

عفونت زخم پای دیابتی که آنتی‌بیوتیک دریافت کرده‌اند در مقایسه با آنان که این دارو دریافت نکرده‌اند کمتر است ($P< ۰/۰۵$)؛ این یافته موید این نکته است که باکتری‌های گرم منفی د رعفونت‌های زخم‌های پای دیابتی، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در بیمارستان مقاومت پیدا کرده‌اند که از این رو می‌بایست با توجه به اکولوژی باکتریال محیط‌های بیمارستانی، نسبت به آنتی‌بیوتیک مناسب اقدام نمود.

امروزه در درمان آنتی‌بیوتیکی به صورت ترکیبی، از وانکومایسین، مترونیدازول و آزترونام (aztreonam) یا فلوروکوئنولون(fluoroquinolone) و کلیندامایسین استفاده می‌شود (۱۰).

مراجع

1) Reber GE, Boyko EJ, Smith DG. Lower extremity foot ulcers and amputations in diabetes. In Harris MI. Diabetes in America, 2nd ed. Washington, DC: US Goverment printing office, 1995, 409-428.
2) Slovenkai MP. Foot problems in diabetes. Med Clin North Am 1998; 82:949-71.
3) Caputo GM, Cavanagh PR, Ulbrecht JS, et al. Assessment and management of foot disease in patients with diabetes. N Eng J Med 1994; 331:854-860.
4) Wheat LJ, Allen SD, Kuelber T. Diabetic foot infections: Bacteriologic analysis. Arch Inern Med 1986; 146:1935-40.
5) Louie TJ. Bartett JG, Tally FP, Gorbach SL. Aerobic and anaerobic bacteria in diabetic foot ulcers. Ann J Med 1976; 85:461-63.
6) Lavery LA, Walker SC, Harkless LB. Infected puncture wounds in diabetic and nondiabetic adults. Diabetes Case 1995; 18:1588-91.
7) Currie BP, Casey JI. Host defense and infections in diabetes mellitus. In: Porte D, Sherwin RS. Ellenberg & Rifkin's Diabetes Mellitus. 5th ed. Stamford: Appleton & lange, 1997, 866.
8) Sapico FL. The infected foot of the diabetic patient: Quantitative microbiology and analysis of clinical features. Rev Infect Dis 1984; 6(Suppl. 1): S171.
9) Bamberger DM, Davs GP, Gerding DN. Osteomyelitis in the feet of diabetic patients. Long term results, prognostic factors, and the role of antimicrobial and surgical therapy. Am J Med 1987; 83:653.
10) Pedowitz WJ. Diagnosis and treatment of infections of the diabetic foot. Foot Ankle Clin 1997; 2:89-98.