

mgr Renata Klekotka

**STATUS BAKTERIOLOGICZNY W OBREMBIE NOSA I GARDŁA
U PACJENTÓW Z CUKRZYCĄ TYPU 2**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: **Prof. dr hab. n. med. Bogdan Mazur**

Promotor pomocniczy: **Dr n. med. Elżbieta Mizgala-Izworska**

Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii

Kierownik Katedry: **Prof. dr hab. n. med. Zenon P. Czuba**

Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Zabrze 2018

STRESZCZENIE

Choroby zakaźne u pacjentów z cukrzycą występują ze zwiększoną częstotliwością. Zakażeniu u pacjentów z DM2 sprzyja hiperglikemia, która doprowadza do zaburzeń odporności dotyczącej czynności neutrofilii, układu antyoksydacyjnego i odporności humoralnej. Pacjenci z DM2 borykają się z mikro- i makroangiopatią, neuropatią, chorobami układu krążenia, przewodu pokarmowego i układu moczowego. Na zwiększenie zachorowalności wpływają procesy infekcyjne, które mogą być pierwszym objawem cukrzycy, a także czynniki prowadzące do powikłań, które są związane z chorobą, takie jak kwasica ketonowa i hipoglikemia.

W jamie nosowo-gardłowej występuje flora fizjologiczna, wśród której, obecne są również drobnoustroje potencjalnie patogenne, co stanowi konsekwencję nosicielstwa. Bakterie oportunistyczne kolonizujące błony śluzowe nosogardzieli to: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* i *Moraxella catarrhalis*. Wymaz z gardła służy przede wszystkim do diagnostyki ostrego zapalenia gardła, migdałków podniebiennych i rozróżnienia zakażeń wywołanych przez *Streptococcus pyogenes* od zakażenia wirusowego. Wymaz z przedsionka nosa jest natomiast materiałem wystarczającym do stwierdzenia nosicielstwa *Staphylococcus aureus*. Zakażenia oportunistyczne pojawiają się, gdy dochodzi do zmian w obrębie flory komensalnej lub na skutek ostrego urazu. Drobnoustroje, które najczęściej stanowią potencjalnie patogenną florę górnych dróg oddechowych to bakterie z rodzaju: *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Bacteroides* spp., *Stenotrophomonas*, *Actinobacter* spp., *Streptococcus* gr. A,B,C,D, oraz gatunki: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Eserichia coli*, *Hemophilus influenzae*,

Określenie częstości występowania bakterii chorobotwórczych i oportunistycznych wraz z oceną lekowrażliwości jest pomocne w diagnostyce i leczeniu pacjentów chorych na cukrzycę z zakażeniami górnych dróg oddechowych. Uzyskane wyniki mogą zwiększyć skuteczność leczenia pacjentów, a identyfikacja patogenów chorobotwórczych w badaniach kontrolnych może przyczynić się do wzrostu profilaktyki zdrowotnej pacjentów.

Celem pracy było:

1. Określenie częstości występowania, w jamie nosowej i gardle, kolonizacji szczepów oportunistycznych, które mogą odpowiadać za zakażenia oportunistyczne u pacjentów z cukrzycą typu 2.

2. Ocena lekooporności bakterii chorobotwórczych i oportunistycznych, które wyizolowano z jamy nosowej i gardła pacjentów chorych na cukrzycę typu 2.
3. Ustalenie zależności pomiędzy kolonizacją szczepami oportunistycznymi a: rodzajem leczenia hipoglikemizującego, czasem trwania cukrzycy, parametrami antropometrycznymi i laboratoryjnymi badanymi pacjentów.

Do badania zakwalifikowano 88 pacjentów, chorujących na cukrzycę typu 2, którzy byli objęci opieką lekarza rodzinnego przychodni NZOZ „Sanpron” w Zabrze. Z pacjentami został przeprowadzony wywiad w formie ankiety. Pytania ankietowe dotyczyły: stosowanych leków w terapii przeciwcukrzycowej, schorzeń współistniejących, czasu trwania choroby, wieku i płci pacjenta. Badania antropometryczne dotyczyły pomiaru obwodu tali, wagi czy BMI. Z badań zostali wykluczeni pacjenci obciążeni dodatkowymi schorzeniami ogólnoustrojowymi oraz przyjmujący antybiotyki w ostatnich 6 tygodniach. Badania mikrobiologiczne wymagały pobrania wymazów z nosa i gardła od wszystkich zakwalifikowanych pacjentów. Badania mikrobiologiczne obejmowały hodowlę i identyfikację bakterii w warunkach tlenowych i beztlenowych oraz hodowlę i wstępną identyfikację grzybów z rodzaju *Candida*. Badania wykonano w Laboratorium Mikrobiologicznym Katedry i Zakładu Mikrobiologii i Immunologii ŚUM w Zabrze.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 12.5., dostarczoną przez firmę StatSoft Polska. Po określeniu rozkładu próby testem Kolmogorowa-Smirnowa dla porównania danych o rozkładzie normalnym zastosowano test jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA), natomiast dla danych o rozkładzie innym niż normalny zastosowano test Kruskala-Walisa. W analizie post-hoc zastosowano test RIR Tukey'a. Wyniki przedstawiono w postaci średniej, odchylenia standardowego, mediany i rozstępu kwartylowego. Liczebności w badanych grupach porównano testem χ^2 Pearsona z poprawką Yatesa. Za znamienne statystyczne uznawane były takie wyniki testów i analiz statystycznych, dla których poziom istotności wynosił $P \leq 0,05$.

Na podstawie uzyskanych wyników badań własnych można wnioskować:

1. U pacjentów z cukrzycą typu 2 występuje zwiększona częstość kolonizacji przez oportunistyczne bakterie gram (+), a nosicielstwo *Staphylococcus aureus* MSSA w jamie nosowej zidentyfikowano u 18% badanych.
2. Istnieje zależność pomiędzy występowaniem w nosie kolonizacji szczepami *Staphylococcus aureus* MSSA, a stosowanymi lekami hipoglikemizującymi.
3. Istnieje zbieżność zjawisk występowania w nosie kolonizacji szczepami *Staphylococcus aureus* MSSA, a hipercholesterolemią.

4. Najczęstszą lekooporność dla oportunistycznych bakterii gram (+) wykazywano w stosunku do: chinolonów i glikopeptydów, natomiast dla oportunistycznych bakterii gram (-) odnotowywano wobec: penicylin oraz penicylin z inhibitorami.

Słowa kluczowe: cukrzyca, nosicielstwo, *Staphylococcus aureus*, leki hipoglikemizujące, lekooporność

SUMMARY

Infectious diseases in patients with diabetes occur with increased frequency. Infection in DM2 patients promotes hyperglycaemia, which leads to impaired immunity, neutrophil function, antioxidant and humoral immunity. Patients with DM2 suffer from micro- and macroangiopathy, neuropathy, cardiovascular, gastrointestinal and urinary tract diseases. Increased incidence is due to infectious processes, which may be the first manifestation of diabetes, as well as factors leading to complications that are related to the disease, such as ketoacidosis and hypoglycaemia.

There is a physiological flora in the nasopharyngeal cavity, among which there are potentially pathogenic microorganisms, which is a consequence of carrier. Opportunistic bacteria colonies of nasopharynx are: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis*. Pharyngeal swab its primarily serves to diagnose acute pharyngitis, tonsillitis, and to distinguish between *Streptococcus pyogenes* infections caused by viral infections. Swab from the atrium of the nose is a material sufficient to determine the carrier of *Staphylococcus aureus*. Occurrence of opportunistic infections occurs when there is a change in the comorbid flora or as a result of acute injury. The most common pathogenic microflora of the upper respiratory tract are: *Pseudomonas* spp, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Eserichia coli*, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp, *Hemophilus influenzae*, *Bacteroides* spp, *Stenotrophomonas*, *Actinobacter* spp, *Streptococcus* gr. A, B, C, D.

Determining the incidence of pathogenic and opportunistic pathogens along with the assessment of susceptibility is helpful in the diagnosis and treatment of patients with diabetes with upper respiratory tract infections. The results obtained may increase the efficacy of treatment of patients and the identification of pathogens in the control study may contribute to the increase of patients' prophylaxis.

The aim of the work was:

1. Determine the incidence of nasal and throat infections, colonization of opportunistic strains that may be responsible for opportunistic infections in patients with type 2 diabetes.
2. Assessment of the drug resistance of pathogenic and opportunistic bacteria isolated from the nasal and pharynx of patients with type 2 diabetes.

3. Determining dependence between colonization of opportunistic strains and: type hypoglycaemic treatment, duration of diabetes, anthropometric and laboratory parameters of patients.

88 patients with type 2 diabetes were enrolled in the study, who were covered by the NZOZ "Sanpron" family physician in Zabrze. Patients were interviewed in the form of a questionnaire. The questionnaire concerned: medicinal products used in antidiabetic therapy, co-morbidities, duration of illness, age and gender of the patient. Anthropometric analyzes involved measurement of waist circumference, weight, or BMI. Patients with extra systemic diseases and those receiving antibiotics in the last 6 weeks were excluded. Microbiological tests required the removal of nasopharyngeal swabs from all eligible patients. Microbiological studies included the breeding and identification of bacteria in aerobic and anaerobic conditions and the breeding and initial identification of *Candida* fungi. The research was carried out in the Microbiological Laboratory of the Chair and Department of Microbiology and Immunology of ŚUM in Zabrze.

Statistical analysis was performed using Statistica 12.5 software provided by StatSoft Polska. After determining the distribution of the sample by the Kolmogorov-Smirnov test, one-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare the normal distribution data, while Kruskal-Wallis test was used for non-normal distribution data. Post-hoc analysis used the Tukey RIR test. Results are presented as mean, standard deviation, median and quartile stretch. The numbers in the study groups were compared with the Chi² Pearson test with the Yates correction. Statistically significant tests and analyzes were considered statistically significant for which the significance level was $P \leq 0.05$.

Based on the results of our own research, we can conclude:

1. Patients with type 2 diabetes have an increased frequency of colonization by opportunistic gram (+) bacteria and *Staphylococcus aureus* MSSA in the nasal cavity was identified in 18% of the subjects.
2. There is a correlation between the occurrence in the nose of colonization with *Staphylococcus aureus* MSSA strains and used hypoglycaemic drugs.
3. There is a convergence of occurrences of nose colonization with *Staphylococcus aureus* MSSA and hypercholesterolemia.
4. The most common drug resistance for opportunistic gram (+) bacteria has been shown in relation to: quinolones and glycopeptides, while for opportunistic bacteria gram (-) was recorded against: penicillins and penicillins with inhibitors.

Key words: diabetes mellitus, carriers, *Staphylococcus aureus*, hypoglycemic drugs, drug resistance