

Aspetti microbiologici delle ulcere diabetiche e delle loro complicanze

**Giornale Italiano di
Microbiologia Medica
Odontoiatrica e Clinica**
Vol. II, N° 3 1998
p. 21 - 27

Organo ufficiale della
S.I.M.M.O.C.

Copyright © 1998

**M. Napolitano,
E. Bringheli,
V. Cusumano,
F. Anzani
Ciliberti*,
G. Teti**

Istituto di
Microbiologia,
Facoltà di Medicina
e Chirurgia,
Università degli
Studi di Messina

*Autore di riferimento:
F. Anzani Ciliberti

INTRODUZIONE

Le lesioni cutanee frequentemente presenti nelle estremità inferiori dei pazienti diabetici hanno un'origine multifattoriale (23) e sono riconducibili alla neuropatia, all'ischemia e all'infezione; esse meritano particolare attenzione perché evolvono spesso in modo rapido e grave, potendo dar luogo alla perdita dell'arto (11, 23). Le infezioni a livello di queste lesioni hanno un ruolo decisivo nella patogenesi e nell'evoluzione della malattia. Recentemente sono stati compiuti enormi progressi nella prevenzione e nel trattamento di queste condizioni. Purtroppo questi principi, anche se ben documentati, non vengono attuati in maniera capillare nella pratica clinica. Di conseguenza il costo economico e sociale dell'amputazione degli arti inferiori in pazienti diabetici permane inaccettabilmente elevato (3).

La condizione prima che, in ultima analisi, porta all'amputazione dell'arto è l'ulcera infetta che, quando cronicizza, diffonde nei tessuti sottostanti fino a raggiungere l'osso, dove determina temibili osteomieliti. Fino al 90% delle ulcere possono essere curate con un approccio terapeutico combinato volto a depressurizzare e rivascolarizzare l'area interessata, e - non ultimo in ordine di importanza - a trattare la patologia infettiva (3).

Riesamineremo qui brevemente alcuni aspetti che concernono l'eziologia, la diagnosi ed il trattamento delle ferite difficili nel paziente diabetico.

Sarà opportuno riconsiderare, per chiarezza, alcune definizioni di lesioni cutanee rilevanti ai fini della nostra discussione.

Le ulcere cutanee sono perdita di sostanza di vecchia data che si riscontra-

no, quasi sempre, in pazienti allettati e defedati, aventi scarsa tendenza alla guarigione spontanea sia per cause locali, come infezioni o traumi ripetuti, sia generali, come concomitanti malattie sistemiche (5).

Le ferite "difficili" sono ferite che presentano problemi della più diversa natura. Questi problemi possono, ad esempio, riguardare una difficoltà diagnostica, la gravità dell'estensione o, più spesso, ritardi di guarigione. Le ulcere diabetiche sono certamente un tipo di ferita difficile in quanto perdita di sostanza di vecchia data.

Una particolare attenzione va riservata ai meccanismi neurologici. Infatti, l'evento che spesso porta alla formazione del "male perforante plantare" è l'insieme di traumi e microtraumi che agiscono per un tempo prolungato a livello sia della pianta che di altre regioni del piede, favoriti dalla polineuropatia, la quale comporta una ipoestesia periferica con riduzione della percezione degli stimoli dolorosi (3, 23).

Anche la microangiopatia riveste un importante ruolo fisiopatologico. Infatti, il diabete, nel tempo, determina un danno sull'endotelio vascolare con conseguente reazione infiammatoria fino all'occlusione del vaso stesso (23). Poiché le arterie coinvolte sono di tipo terminale, mancando un buon circolo collaterale, oltre ad una ridotta perfusione tissutale con bassa tensione di ossigeno, si determina una ridotta funzionalità dei meccanismi di killing ossigeno-dipendenti da parte dei fagociti professionali. A ciò va aggiunto il difetto intrinseco nella chemiotassi dei leucociti polimorfonucleati nei pazienti diabetici (24).

RASSEGNA

Napolitano et al.

EZIOPATOGENESI

Per poter stabilire se un'ulcera diabetica è preda di un processo infettivo bisogna analizzare l'esistenza di uno o più segni obiettivi, quali la presenza di raccolte purulente, tratti fistolosi e siti di drenaggio, di crepitazione (3) e, non ultimi, di segni di infiammazione quali aumento della temperatura locale, edema, rossore e dolore (6) (Tab. I). Se i dati obiettivi suggeriscono la presenza di infezione è importante, inoltre, determinare la gravità di quest'ultima, distinguendo così tre gradi di ulcere infette, e cioè: infezioni lievi, infezioni progressive e pericolose per la vita (3, 4) (Tab. II). La gravità della cellulite può variare da forme leggere e localizzate a quelle necrotizzanti che minacciano l'arto (3).

Numerose linee di evidenza indicano che l'eziologia delle ulcere diabetiche è prevalentemente polimicrobica (Tab. III) (14, 15, 20, 29, 30, 31, 36).

In genere le infezioni lievi e superficiali sono causate da cocchi gram-positivi come *Staphylococcus aureus*, streptococchi di gruppo B e D e streptococchi viridanti (3). Le infezioni più profonde, che possono coinvolgere buona parte dell'arto, sono quasi sempre polimicrobiche e vengono causate da batteri anaerobi (soprattutto *Bacteroides spp* e *Peptostreptococcus spp*) e da bacilli gram-negativi, quali *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* e *Proteus spp* (3) (Tab. III). Le infezioni da anaerobi sono caratteristicamente maleodoranti con presenza di gas sottocutaneo e con abbondante perdita di sostanza (24).

Gli stafilococchi coagulasi-negativi e *Corynebacterium spp* sono isolati più frequentemente da tamponi superficiali che da quelli profondi, mentre *Propionibacterium spp* e *Bacillus spp* nonché *Candida spp* si ritrovano in egual misura sia nei tamponi superficiali che nei profondi (31) (Tab. III). Pertanto il ruolo patogeno degli stafilococchi coagulasi-negativi, enterococchi e *Corynebacterium spp* è di difficile interpretazione particolarmente quando questi si ritrovano in associazione a microrganismi più virulenti (3). Esiste, infatti, la possibi-

Tabella I

Segni obiettivi patognomonici dell'avvenuta infezione delle ulcere diabetiche

- Segni di flogosi, quali: gonfiore, arrossamento, dolorabilità, calore.
- Presenza di essudato purulento e/o necrotico e/o maleodorante.
- Presenza di tragitti fistolosi.
- Presenza di gas sottocutaneo con crepitazione.
- Segni sistemici, quali: alterazione della termoregolazione, SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome), leucocitosi neutrofila.

lità che microrganismi meno invasivi possono sinergizzare con altri, assumendo un ruolo chiave nell'inizio e nel mantenimento dell'infezione (31).

Per quel che riguarda la febbre, in circa due terzi dei casi, essa può essere assente in ulcere profonde ed estese ai tessuti molli (3). Comunque, quando presente, essa si manifesta più frequentemente nei pazienti con ferite sporche e maleodoranti, dalle quali vengono isolati batteri anaerobi. Inoltre, la febbre sembra associata più spesso a batteriemia in presenza di infezioni sostenute da *Bacteroides fragilis* e *Staphylococcus aureus*, ed è assai più rara nel corso di infezioni con enterococchi, *Clostridium spp*, streptococchi anaerobi e *Proteus spp* (29, 31).

L'osteomielite è la complicanza più grave del "piede diabetico" ed è causata di solito dalla diffusione di infezioni dei tessuti molli contigui, soprattutto in soggetti adulti che presentano disfunzioni metaboliche ed insufficienza vascolare (1, 10, 34), o per inoculazione diretta secondaria a traumi o interventi chirurgici (1, 32, 34). I microrganismi più frequentemente isolati sono cocchi aerobi gram-positivi (19), tra cui *Staphylococcus aureus*, ed in minor misura *Escherichia coli* (10, 25). I cocchi aerobi gram-positivi sono più frequentemente isolati nelle osteomieliti acute, mentre le infezioni croniche sono solitamente sostenute da associazioni polimicrobiche, che comprendono, oltre a *Staphylococcus aureus*, anche bacilli aerobi gram-negativi e germi anaerobi (19).

Tabella II

Criteria classificativi delle ulcere infette

INFEZIONI LIEVI
Sono ulcere a limitata estensione e pr ofondità; cellulite < 2 cm; assenza di segni di ischemia significativa dei tessuti coinvolti; assenza di osteomielite/artrite; paziente capace di collaborar e e in buone condizio - ni generali che non richiedono trattamento in ambiente specialistico; trattamento antiseptico locale.
INFEZIONI PROGRESSIVE
Sono ulcere estese e/o pr ofonde complicate con fatti settici; cellulite > 2 cm con o senza linfangite; compartecipazione ossea; tossicità sistemica; grave ischemia dei tessuti coinvolti; scarsa capacità di col - laborare del paziente e scarsa ef ficacia delle cure domestiche, per cui si richiede trattamento in ambiente specialistico per detersione enzimatica, antisepsi, terapia antibiotica mirata.
INFEZIONI PERICOLOSE PER LA VITA
Sono ulcere estese e pr ofonde in pazienti incapaci di collaborar e e in pessime condizioni generali; si tratta di ulcere inveterate che richiedono ricover o ospedaliero per trattamento specialistico (Advanced wound care) per l'esigenza di supporti particolari, quali letti ad aria fluida, detersione chirur gica, anti - sepsi critica e terapia antibiotica mirata, copertura della lesione tramite sistemi complessi (sostituti cuta - nei, lamine di cheratinociti, der mi artificiali), oppure chirurgici (lembi muscolari, fasciocutanei, utilizzo di tecniche microchirurgiche).

Tabella III

Frequenza di isolamento da ulcere infette di microrganismi singolarmente e/o in associazione tra di loro

MICROORGANISMI	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	30
Stafilococchi coagulasi-negativi	10
Streptococchi emolitici	8
Streptococchi di gruppo D	19
di cui enterococchi	15
<i>Corynebacterium spp</i>	6
<i>Escherichia coli</i>	13
<i>Proteus spp</i>	12
<i>Enterobacter spp</i>	9
<i>Klebsiella spp</i>	7
Altri Enterobatteri	9
<i>Pseudomonas spp</i> e altri batteri non fer mentanti	10
<i>Bacteroides spp</i>	27
di cui <i>B. fragilis</i>	20
<i>Peptostreptococcus spp</i>	15
<i>Peptococcus spp</i>	5
Altri batteri anaerobi	13
<i>Candida spp</i>	6

Nella genesi delle ulcere rivestono notevole importanza alcuni fattori batterici di virulenza che facilitano la dif fusione e la colonizzazione nei tessuti sottostanti. Vanno segnalati, anzitutto, alcune classiche sostanze ad attività enzimatica tra cui le ialuronidasi, prodotte da *Staphylococcus aureus* e da *Streptococcus pyogenes*, e gli enzimi fibrinolitici prodotti da entrambe queste specie. Un enzima altrettanto importante è la coagulasi, la quale, pr ovocando la formazione di un coagulo, ostacola

la fagocitosi (13). Fra i meccanismi che favoriscono la colonizzazione del con - nettivo hanno molta rilevanza le adesine dello *Staphylococcus aureus* e di *Streptococcus pyogenes*, le quali sono capaci di riconoscere la fibronectina, che hanno buona affinità anche per la matrice dell'osso e della cartilagine (17). Va inoltre ricordato il ruolo delle tossine prodotte da questi ed altri microrganismi, tossine che sono spesso responsabili della inibizione delle attività antimicrobiche dei leucociti.

Microbiologia
delle ulcere
diabetiche

RASSEGNA

Napolitano et al.

DIAGNOSI

Poiché non tutte le ulcer e diabetiche sono infette (3), solo queste ultime vanno sottoposte ad indagini micr obologiche ed a trattamento con antibiotici. È quindi necessario identificare al più presto i microrganismi responsabili dell'infezione in modo da intervenire con una terapia mirata. Ciò non deve tuttavia rinviare l'istituzione immediata di una terapia ragionata, salvo poi – se necessario – modificarla eliminando i farmaci meno efficaci.

Esistono diverse tecniche di prelievo dei campioni; le più usate sono il tampone superficiale, il curettage della base dell'ulcera – dopo detersione e rimozione dell'escara – l'aspirazione di materiale ascessuale liquido e la biopsia. La biopsia chirurgica dei tessuti necrotici è, di gran lunga, il metodo più attendibile di raccolta dei campioni per l'esame microbiologico, soprattutto in caso di osteomielite. Il prelievo chirurgico dovrebbe essere praticato mediante un approccio che non attraversi l'ulcera e dovrebbe quindi essere effettuato attraverso zone cutanee integre, previa detersione (3). Va comunque valutato il beneficio che si può trarre da questa procedura in rapporto al trauma che ne deriva. L'agobiopsia, che è altrettanto attendibile e meno traumatica, va eseguita dopo rimozione dell'escara, quando presente. Questo metodo consente di prelevare i microrganismi presenti al fronte del processo infettivo. I prelievi biotici sono gli unici metodi che permettono un'analisi quantitativa della carica microbica, espressa come numero di UFC per grammo di tessuto. Ciò rappresenta, evidentemente, un'ulteriore indicazione circa il ruolo eziologico del microrganismo isolato.

Nel laboratorio di microbiologia i tessuti profondi, così ottenuti, vanno pesati, omogeneizzati in anaerobiosi sotto cappa prima di essere diluiti, piastrati e coltivati nelle stesse condizioni (31).

Risultano attendibili – anche se non ideali – i campioni ottenuti mediante curettage della base dell'ulcera, dopo un'accurata rimozione degli strati superficiali mediante garze sterili o mediante strumenti acuminati. L'uso del tampone superficiale, invece, presenta dei limiti in quan-

to i microrganismi responsabili dell'infezione sono localizzati al fondo dell'ulcera (3). Un altro problema è rappresentato dalla presenza, sui bordi della ferita, di flora normalmente presente sulla cute. Tuttavia esistono condizioni in cui il tampone può essere l'unica tecnica di prelievo possibile ed in questo caso è necessario, sempre e dopo un'accurata detersione, procedere estendendolo a tutta la lesione in modo da prelevare più materiale possibile.

La diagnosi di osteomielite presenta non pochi problemi (35). Data la scarsa sensibilità dei comuni mezzi diagnostici strumentali, la biopsia per cutanea associata all'esame microbiologico è la tecnica più idonea ai fini della diagnosi di questa complicanza (3). La radiografia diretta, inoltre, non permette una diagnosi differenziale tra l'osteoartrite diabetica e l'osteomielite. Di per sé il semplice fatto di poter raggiungere l'osso con una sonda chirurgica sterile è già una buona indicazione della probabile presenza di un processo osteomielitico (3). La scansione con radionuclidi, la tomografia computerizzata e la risonanza magnetica sono usate solo nei casi in cui la diagnosi di osteomielite è equivoca ed aiutano a valutare l'estensione dell'infezione dell'osso e dei tessuti molli (22). Bisogna anche tener presente che la scansione dell'osso con tecnezio 99 pir ofosfato può dare falsi negativi sia falsi positivi in pazienti che riportano danni dei tessuti ossei in seguito a trauma o intervento chirurgico (35). Queste metodiche, inoltre, sono molto costose, oltre ad essere poco precise e sensibili (3). Quindi la coltura dei campioni di osso infetto, ottenuti tramite aspirazione o biopsia, dopo curettage dei tessuti molli, rimane l'unico mezzo utile per una corretta diagnosi (9, 16, 19).

TERAPIA

Il trattamento delle ulcer e infette dei soggetti diabetici presenta alcune difficoltà (12, 14, 19). La presenza di infezioni polimicrobiche, di processi osteomielitici e di alcune complicanze della malattia diabetica quali l'insufficienza vascolare, l'ipoestesia periferica ed il coinvolgi-

Tabella IV

Schema per la terapia ragionata delle ulcere diabetiche

TRATTAMENTO	INFEZIONI LIEVI	INFEZIONI PROGRESSIVE	INFEZIONI PERICOLOSE PER LA VITA
ORALE	Cefalexina	Fluorochinolone + Clindamicina	
	Clindamicina		
	Dicloxacillina		
	Amoxicillina + Clavunato		
PARENTERALE	Cefazolina	Ampicillina + Sulbactam	Imipenem + Cilastatina
	Oxacillina o Nafcillina	Ticarcillina + Clavulanato	Vancomicina + Aztreonam + Metronidazolo
	Clindamicina	Cefoxitina	Ampicillina + Sulbactam
		Fluorochinolone + Clindamicina	

Microbiologia
delle ulcere
diabetiche

mento renale, oltre a livelli glicemici particolarmente elevati, possono influire sul tipo di trattamento da intraprendere (14).

È opportuno, pertanto, reiterare, anche ai fini della terapia, la necessità di suddividere le infezioni in tre categorie in base alla gravità (Tab. IV). È inoltre importante considerare fattori sociali come la disponibilità di cure domestiche adeguate e la collaborazione dello stesso paziente. Nelle infezioni lievi o progressive è indifferente ricorrere ad un trattamento orale o parenterale, oppure iniziare con un trattamento parenterale e proseguire con quello orale. Nelle infezioni che minacciano la vita è sempre necessario, come è intuibile, ricorrere a cure parenterali. La tabella IV fornisce uno schema dettagliato sugli antibiotici che è possibile utilizzare in generale. Dopo il responso dell'esame colturale e dell'antibiogramma, tale schema potrà essere modificato allo scopo di restringere lo spettro. Ciò per evitare l'insorgenza, a lungo termine, di resistenze, responsabili inoltre dell'incremento dei costi in seguito all'uso di antibiotici inappropriati. In generale, gli aminoglicosidi vengono riservati alle infezioni più gravi, ma non bisogna dimenticare i rischi di nefrotossicità di tali molecole soprattutto in pazienti diabetici, nei quali la complicità a livello glomerulare non è infrequente. Le cefalosporine orali o la clindamicina, dotata di un'eccellente penetrazione tissutale, offrono una copertura adeguata

nei confronti dei batteri anaerobi e dei cocci gram positivi. Una molecola particolarmente utile nell'ambito delle cefalosporine, è la cefoxitina, resistente alle penicillinasi ed attiva soprattutto verso anaerobi produttori di β -lattamasi tipo *Bacteroides fragilis* e *Clostridium spp* (28).

È possibile utilizzare, allo stesso scopo, anche penicilline resistenti alle β -lattamasi, quali la dicloxacillina, l'oxacillina o la nafcillina. Le penicilline suscettibili alle β -lattamasi (ad es. amoxicillina ed ampicillina) vanno usate solo sotto forma di associazioni con inibitori delle β -lattamasi quali il sulbactam e l'acido clavulanico; questo trattamento, però, è poco efficace nelle infezioni da *Pseudomonas spp* (14).

Un trattamento efficace anche nelle infezioni progressive, è rappresentato dall'associazione tra fluorochinoloni e clindamicina, due farmaci somministrabili per via orale. Non sembra opportuno utilizzare il fluorochinolone da solo, come è stato suggerito da alcuni autori, in quanto questo farmaco è scarsamente attivo sui batteri gram-positivi (18). È quindi importante associare al fluorochinolone altri antibiotici, tra cui la clindamicina, caratterizzata da un'emivita di 5 h sia nei tessuti molli che nell'osso (8), o la vancomicina, attiva sulla maggior parte dei batteri gram-positivi. L'associazione fluorochinolone-clindamicina può essere utilizzata oltre che per via orale, anche per via

RASSEGNA

Napolitano et al.

parenterale in alternativa all'ampicillina-sulbactam. Va sottolineato, tuttavia, che il numero di ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* resistenti a quest'ultimo trattamento è decisamente più elevato rispetto a quelli trattati con l'associazione ticarcillina-clavulanato (27).

Per le infezioni gravi è inoltre e particolarmente efficace l'imipenem, un carbapenemico ad ampio spettro. È altamente attiva anche l'associazione vancomicina-metronidazolo-aztreonam. Il metronidazolo è attivo sugli anaerobi, la vancomicina sui gram-positivi, compresi gli stafilococchi meticillino-resistenti, e l'aztreonam prevalentemente sui gram-negativi.

Per ottenere una più veloce risoluzione del processo infettivo ed una maggior stabilità dell'osso, il trattamento antibiotico dell'osteomielite deve essere iniziato prontamente (1) e sempre associato a detersione dei tessuti necrotici sia dell'osso che dei tessuti molli (1, 2, 21, 22). Tra gli agenti infettanti, lo *Staphylococcus aureus* purché non meticillino-resistente è risultato (25) per lo più sensibile all'associazione amoxicillina-acido clavulanico, mentre i bacilli gram-negativi sono risultati sensibili a cefotaxime, piperacillina e clindamicina (25).

La clindamicina è l'agente comunemente più usato per via orale. Bisogna considerare che il 5% dei pazienti non risponde all'iniziale terapia ed è, inevitabilmente, costretto all'amputazione dell'arto, mentre l'1%, anche se risponde bene alla terapia, può presentare una recrudescenza dopo alcuni anni (33).

La durata del trattamento antibiotico è in media da 4 a 8 settimane (1, 2, 21, 22, 26, 33) per via sistemica, seguita da un trattamento per via orale di 3 settimane (26).

Comunque, per una migliore risoluzione del quadro clinico la terapia a base di antibiotici non deve prescindere da una corretta detersione dell'ulcera sia di tipo medico che chirurgico. Infatti, questa costituisce l'inizio di un buon trattamento, in quanto permette di allontanare i corpi estranei ed i tessuti necrotici che costituiscono un ottimo "pabulum" per la crescita dei batteri (7). Essa, per ciò, tende a ridurre lo sviluppo della flora

microbica nelle ulcere infette, proteggendo i tessuti sani e stimolando la formazione del tessuto di granulazione e la precoce cicatrizzazione della ferita.

BIBLIOGRAFIA

1. Armstrong E.P., Rush D.R. Treatment of osteomyelitis. Clin Pharm. 2: 213-224. 1983.
2. Bamberger D.M. Osteomyelitis. A common-sense approach to antibiotic and surgical treatment. Postgrad Med. 94: 177-182. 1993.
3. Caputo G.M., Cavanagh P.R., Ulbrecht J.S., Gibbons G.W., Karchmer A.W. Assessment and management of foot disease in patients with diabetes. N Engl J Med. 29: 854-860. 1994.
4. Donati L., Colonna M., Garbin S., Marazzi M. Inquadramento clinico delle ferite. Donati L. (Ed). Le ferite e la riparazione tissutale. Bi & Gi Editori. 1993. 62.
5. Donati L., Colonna M., Garbin S., Marazzi M. Inquadramento clinico delle ferite. Donati L. (Ed). Le ferite e la riparazione tissutale. Bi & Gi Editori. 1993. 75.
6. Donati L., Colonna M., Garbin S., Marazzi M. Inquadramento clinico delle ferite. Donati L. (Ed). Le ferite e la riparazione tissutale. Bi & Gi Editori. 1993. 61.
7. Donati L., Colonna M., Garbin S., Marazzi M. La detersione. Donati L. (Ed). Le ferite e la riparazione tissutale. Bi & Gi Editori. 1993. 107-115.
8. Duckworth C., Fisher J.F., Carter S.A., et al. Tissue penetration of clindamycin in diabetic foot infections. J Antimicrob Chemot. 31: 581-584. 1993.
9. Gentry L.O. Antibiotic therapy for osteomyelitis. Infect Dis Clin North Am. 4: 485-499. 1990.
10. Gentry L.O. Osteomyelitis: options for diagnosis and management. J Antimicrob Chemother. 21, Sup C: 115-131. 1988.
11. Gibbons G.W. The diabetic foot: amputations and drainage of infection. J Vasc Surg. 5: 791-793. 1987.
12. Gibbons G.W., Eliopoulos G.M. Infection of the diabetic foot. Kozak G.P., Hoar C.S. Jr, Rowbotham J.L., et al (Eds). Management of diabetic foot problems: Joslin Clinic and New England Deaconess Hospital. Philadelphia: WB Saunders. 1984. 97-102.

13. Gismondo M.R., Drago L. Agenti infettanti le ferite cutanee. Donati L. (Ed). La terapia delle lesioni cutanee: il ruolo della detersione. ADIS International Limited, Milano.1996. 33-34.
14. Grayson M.L., Gibbons G.W., Habershaw G.M., et al. Use of ampicillin/sulbactam versus imipenem/cilastatin in the treatment of limb-threatening foot infections in diabetic patients. *Clin Infect Dis.* 18: 683-693. 1994.
15. Hunt J.A. Foot infections in diabetes are rarely due to a single microorganism. *Diabet Med.* 9: 749-752. 1992.
16. Laughlin R.T., Wright D.G., Mader J.T., Calhoun J.H. Osteomyelitis. *Curr Opin Rheumatol.* 7: 315-321. 1995.
17. Lew D.P., Waldvogel F.A. Osteomyelitis. *N Engl J Med.* 336: 999-1007. 1997.
18. Lipsky B.A., Baker P.D., Landon G.C., Fernau R. Antibiotic therapy for diabetic foot infections: comparison of two parenteral-to-oral regimens. *Clin Infect Dis.* 24: 643-648. 1997.
19. Lipsky B.A., Pecoraro R.E., Wheat L.J. The diabetic foot. Soft tissue and bone infection. *Infect Dis Clin North Am.* 4: 409-432. 1990.
20. Louie T.J., Bartlett J.G., Tally F.P., Gorbach S.L. Aerobic and anaerobic bacteria in diabetic foot ulcers. *Ann Intern Med.* 85: 461-463. 1976.
21. Mader J.T., Landon G.C., Calhoun J. Antimicrobial treatment of osteomyelitis. *Clin Orthop.* 295: 87-95. 1993.
22. Mader J.T., Ortiz M., Calhoun J.H. Update on the diagnosis and management of osteomyelitis. *Clin Podiatr Med Surg.* 13: 701-724. 1996.
23. Marazzi M., Veronesi A.M., Ordanini M.N., Ferrone M. Lesioni cutanee in pazienti diabetici: un caso clinico. Donati L.(Ed).La terapia delle lesioni cutanee: il ruolo della detersione. ADIS International Limited, Milano.1996. 49-50.
24. McIntyre K.E. Control of infection in the diabetic foot: the role of microbiology, immunopathology, antibiotics, and guillotine amputation. *J Vasc Surg.* 5: 787-790. 1987.
25. McLigeo, Otieno L.S. Diabetic ulcers: a clinical and bacteriological study. *East Afr Med J.* 68: 204-210. 1991.
26. Norden C.W. Diagnosis and treatment of osteomyelitis. *Cutis.* 36, Sup 5A: 13-14. 1985.
27. Paroli E. Antibiotici antibatterici. Paroli E. *Farmacologia generale speciale e clinica - Tossicologia.* Societ9 Editrice Universo. Roma. 1997. 1048-1049.
28. Paroli E. Antibiotici antibatterici. Paroli E. *Farmacologia generale speciale e clinica - Tossicologia.* Societ9 Editrice Universo. Roma. 1997. 1052.
29. Sapico F.L., Bessman A.N., Canawati H.N. Bacteremia in diabetic patients with infected lower extremities. *Diabetes Care.* 5: 101-104. 1982.
30. Sapico F.L., Canawati H.N., Witte, J.L., et al. Quantitative aerobic and anaerobic bacteriology of infected diabetic feet. *J Clin Microbiol.* 12: 413-420. 1980.
31. Sapico F.L., Witte J.L., Canawati H.N., Montgomerie J.Z., Bessman A.N. The infected foot of the diabetic patient: quantitative microbiology and analysis of clinical features. *Rev Infect Dis.* 6, Sup 1:171-176. 1984.
32. Saravolatz L.D., del Busto R., Markowitz N. Medical management of osteomyelitis: considerations for home antibiotic chemotherapy. *Clin Ther.* 10: 456-461. 1988.
33. Venkatesan P., Lawn S., Macfarlane R.M., et al. Conservative management of osteomyelitis in the feet of diabetic patients. *Diabet Med.* 14: 487-490. 1997.
34. Weinstein A.J. Osteomyelitis: microbiologic, clinical, and therapeutic considerations. *Prim Care.* 8: 557-569. 1981.
35. Wheat J. Diagnostic strategies in osteomyelitis. *Am J Med.* 78, Sup 6b: 218-224. 1985.
36. Wheat L.J., Allen S.D., Henry M., et al. Diabetic foot infections. Bacteriologic analysis. *Arch Intern Med.* 146: 1935-1940. 1986.