



Jornal Vascular Brasileiro

ISSN: 1677-5449

jvascbr.ed@gmail.com

Sociedade Brasileira de Angiologia e de
Cirurgia Vascular
Brasil

Freitas Fernandes, Ly de; Pimenta, Fabiana Cristina; Freitas Fernandes, Fernando de
Isolamento e perfil de suscetibilidade de bactérias de pé diabético e úlcera de estase venosa de
pacientes admitidos no pronto-socorro do principal hospital universitário do estado de Goiás, Brasil
Jornal Vascular Brasileiro, vol. 6, núm. 3, septiembre, 2007, pp. 211-217
Sociedade Brasileira de Angiologia e de Cirurgia Vascular
São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=245016530003>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica
Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Isolamento e perfil de suscetibilidade de bactérias de pé diabético e úlcera de estase venosa de pacientes admitidos no pronto-socorro do principal hospital universitário do estado de Goiás, Brasil

Isolation and susceptibility profile of bacteria in diabetic foot and venous stasis ulcer of patients admitted to the emergency room of the main university hospital in the state of Goiás, Brazil

Ly de Freitas Fernandes¹, Fabiana Cristina Pimenta², Fernando de Freitas Fernandes³

Resumo

Contexto: Lesões infectadas de membros inferiores (úlceras diabéticas e úlceras de estase venosa) são causa de grande sofrimento e incapacitação funcional com impacto social, econômico e aumento do risco de complicações severas.

Objetivo: Caracterizar a microbiota e determinar o perfil de suscetibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas de lesões de membros inferiores secundárias a úlcera de estase venosa e pé diabético.

Métodos: Foram incluídos no estudo pacientes portadores de lesões de membros inferiores, sendo diabéticos, e pacientes com úlcera de estase venosa, atendidos em um serviço de urgência de um hospital universitário de Goiânia (GO), no período de fevereiro de 2005 a agosto de 2006. A coleta de material foi realizada com *swab* de algodão para realização de cultura e teste de sensibilidade antimicrobiana, empregando-se técnicas preconizadas.

Resultados: Das amostras analisadas, foi detectada a presença de bactérias em 88,46%. Os cocos gram-positivos foram caracterizados como *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. Dentre os bastonetes gram-negativos, detectou-se *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Enterobacter sp.*

Conclusões: Os microorganismos isolados das lesões de membros inferiores (pé diabético e úlcera de estase venosa) incluíram bactérias gram-positivas e negativas, sendo *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* as mais freqüentes, com elevada resistência a diversos antimicrobianos.

Palavras-chave: Microbiota, úlcera de estase venosa, pé diabético, infecção.

Abstract

Background: Infected lower limb injuries (diabetic ulcers and venous stasis ulcers) cause great suffering and functional disability with social and economic impact and increase in risk of severe complications.

Objective: To characterize the microbiota and determine the antimicrobial susceptibility profile of isolated bacteria in lower limb injuries secondary to the venous stasis ulcer and diabetic foot.

Methods: Patients with lower limb lesions were included in the study, both diabetics and patients with venous stasis ulcer, receiving care at the emergency service of a university hospital in Goiânia (Brazil) from February 2005 to August 2006. Samples were collected with cotton swab to perform culture and antimicrobial sensitivity test applying standardized techniques.

Results: Presence of bacteria was detected in 88.46% of the samples. Gram-positive cocci were characterized as *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Among Gram-negative rods, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter sp.* were detected.

Conclusions: Isolated microorganisms of lower limb injuries (diabetic foot and venous stasis ulcer) included Gram-positive and Gram-negative bacteria, such as *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*, which were the most frequent and highly resistant to several kinds of antimicrobial agents.

Keywords: Microbiota, venous stasis ulcer, diabetic foot, infection.

1. Médico. Especialista em Cirurgia Geral, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO. Especialista em Cirurgia Vascular Periférica e Angiologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. Mestrando, Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), UFG, Goiânia, GO. Cirurgião vascular, Hospital das Clínicas, UFG, Goiânia, GO.
2. Co-orientadora. Professora adjunta, Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia (DMIPP), Setor de Microbiologia, IPTSP, UFG, Goiânia, GO.
3. Orientador. Professor adjunto, DMIPP, Setor de Parasitologia-Entomologia, Laboratório de Artropodologia Médica e Veterinária, IPTSP, UFG, Goiânia, GO.

Artigo submetido em 05.10.06, aceito em 14.06.07.

J Vasc Bras 2007;6(3):211-217.

Copyright © 2007 by Sociedade Brasileira de Angiologia e de Cirurgia Vascular

Introdução

Dentre as lesões mais comuns dos membros inferiores, estão as úlceras diabéticas e as de estase venosa¹. As lesões plantares conhecidas por pé diabético, complicação crônica e freqüente do diabetes melito¹, resultam principalmente da neuropatia e da microangiopatia degenerativa caracterizada por alteração da estrutura capilar e da função endotelial protetora². A pressão plantar aumentada, alterações cutâneas tipo ressecamento, fissuras, micoses, deformidades osteoarticulares, atrofia muscular e proeminências ósseas, formação de calosidades de apoio³ e traumas de repetição podem resultar em infecção de pele, tecido subcutâneo, abscessos e fleimões de planos profundos⁴, aumentando significativamente o risco de amputação⁵, que também está associado à arteriosclerose precoce⁶.

As úlceras de estase venosa são também lesões freqüentes⁷ e estão relacionadas a mecanismos fisiopatológicos da insuficiência venosa crônica⁷. Geram grande impacto social e econômico, incapacitação para o trabalho e gastos com tratamento^{7,8}.

Os microrganismos associados às lesões de membros inferiores citadas fazem parte da microbiota da pele, comumente ocorrendo associações de bactérias anaeróbias e aeróbias facultativas e resultando em infecções mistas⁹.

Staphylococcus aureus e *Streptococcus* sp estão presentes nas infecções moderadas do membro inferior ainda sem toxicidade sistêmica, em lesão superficial com celulite, ulceração moderada e leve isquemia¹⁰. Nas infecções graves com celulite extensa, úlcera, linfangites e isquemia, estão presentes cocos gram-positivos (*Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp e *Enterococcus* sp), bactérias anaeróbias, como os bacteróides e as gram-negativas facultativas (*Escherichia coli*, *Enterobacter* sp, etc.), e bastonetes gram-negativos não-fermentadores (*Pseudomonas* e *Acinetobacter*)¹⁰. Objetivou-se isolar e caracterizar os microrganismos de lesões de membros inferiores (pé diabético e úlcera de estase venosa), bem como determinar o perfil de suscetibilidade dos isolados.

Método

A população do estudo foi constituída por pacientes portadores de lesões de membros inferiores (do tipo pé

diabético e úlcera de estase venosa), que deram entrada no hospital universitário de Goiânia. O estudo foi conduzido após aprovação pelo Comitê de Ética e assinatura do consentimento informado pelo paciente ou responsável. A coleta foi realizada em planos profundos da lesão com swab de algodão após anti-sepsia da pele com solução fisiológica e Povidine®, anestesia local com lidocaína a 2% sem vasoconstritor e desbridamento cirúrgico de tecidos desvitalizados. As amostras foram acondicionadas em meio de Stuart, sendo encaminhadas ao laboratório para cultura e teste de sensibilidade antimicrobiana (antibiograma).

As amostras foram semeadas em ágar sangue (sangue de carneiro 5%) e incubadas a 37 °C por 24 a 48 horas. As colônias foram inicialmente identificadas pela coloração de gram, com base em seu desenvolvimento em meios de cultura seletivos e não-seletivos, provas bioquímicas/enzimáticas¹¹ e técnicas automatizadas pelo sistema MicroScan® (Dade Behring – West Sacramento, Califórnia, USA). A suscetibilidade dos isolados foi determinada pelo sistema automatizado, e os resultados, interpretados segundo as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute¹²

Resultados

Neste estudo, avaliou-se 79 casos de lesões de membros inferiores, sendo 50 de pés diabéticos e 29 de úlceras de estase. Foram realizadas 104 culturas, com 92 (88,46%) positivas. Em 65 culturas, foram isoladas bactérias gram-negativas, sendo 42 (45,66%) enterobactérias, 23 (25%) bastonetes não-fermentadores e 27 (29,34%) estafilococos.

As 12 (11,54%) culturas negativas corresponderam a amostras de primeira coleta de nove indivíduos com pés diabéticos e três com úlceras de estase. Em 10 pacientes portadores de pé diabético, foram coletadas mais de uma amostra por caso, devido à evolução desfavorável da lesão, correspondendo a 25 culturas. A Figura 1 ilustra uma lesão de pé diabético, e a Figura 2, uma úlcera de estase.

As bactérias predominantes nas lesões (Figura 3) foram: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e bastonetes gram-negativos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Enterobacter* sp

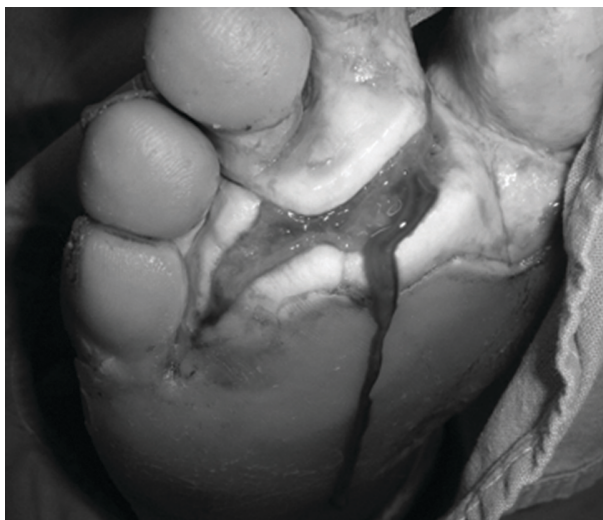


Figura 1 - Pé diabético com abscesso plantar e eliminação de secreção

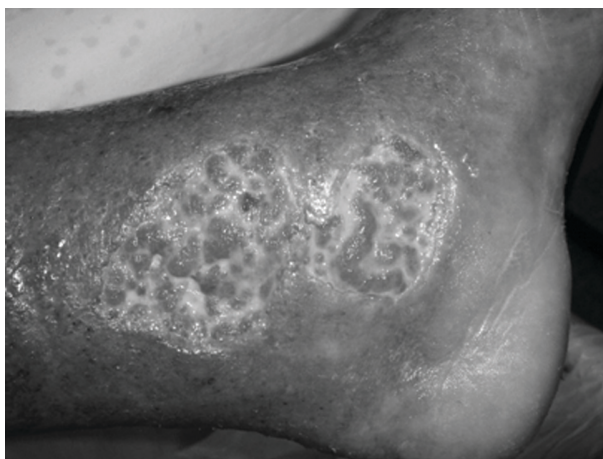


Figura 2 - Úlcera de estase venosa com sinais de insuficiência venosa crônica

(Tabela 1). Observou-se um predomínio de 70,66% de bastonetes gram-negativos isolados das lesões de membros inferiores. No pé diabético, a espécie mais freqüente foi *Staphylococcus aureus*, seguida pela *E. coli* e *P. aeruginosa*; entretanto, na úlcera de estase venosa, predominou a *P. aeruginosa*, seguida por *S. aureus* e *Enterobacter* sp (Figura 3).

A Tabela 2 mostra os resultados das culturas obtidas de 10 pacientes portadores de pé diabético com evolução desfavorável. Na primeira cultura, isolou-se apenas

uma bactéria, sendo que em 20% não foi detectado desenvolvimento microbiano. Nas culturas subsequentes, houve predomínio de *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Em apenas dois casos (A e I), a bactéria detectada na primeira coleta também foi recuperada nas culturas subsequentes (A e I). Evoluíram com necessidade de amputação de membro inferior os casos A, B, C e E, onde foi isolado nos pacientes A e C uma associação de bactérias, destacando *P. aeruginosa* e *S. aureus*. No caso B, foram isolados *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, enquanto que, no caso E, *P. aeruginosa* e *S. aureus*.

Os resultados do perfil de susceptibilidade das quatro bactérias mais freqüentes estão apresentados nos Figuras 4 a 7. *S. aureus* e *P. aeruginosa* predominaram tanto nas lesões de pé diabético como na úlcera de estase venosa, enquanto que a terceira bactéria mais isolada foi *E. coli* no pé diabético e *Enterobacter* sp na úlcera de estase venosa. Todos os *Staphylococcus aureus* foram sensíveis a vancomicina, tobramicina, Synercid (quinupristina/dalfopristina) e linezolida. A sensibilidade do *S. aureus* a gatifloxacina, ampicilina/sulbactam e cefazolina foi de 80%, enquanto que, para a rifampicina, foi de 77% (Figura 4), com resistência a ampicilina, penicilina, amicacina, cefalotina, amoxicilina/clavulanato e oxacilina. *P. aeruginosa* foi sensível a meropenem, imipenem e polimixina B (Figura 5). *E. coli* foi sensível a imipenem e meropenem, ceftazidima, cefepime, aztreonam, gentamicina e amicacina, e menos sensível a ciprofloxacina (Figura 6). Apresentou resistência a ampicilina, amoxicilina/clavulanato, cloranfenicol e cefalotina. *Enterobacter* sp apresentou sensibilidade a amicacina, gentamicina, cefepime, piperacilina/tazobactam, ceftriaxona, ceftazidima, meropenem, ciprofloxacina e aztreonam (Figura 7).

Discussão

Uma elevada freqüência de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e enterobactérias foi detectada nas lesões avaliadas, similar à reportada por Assis et al.¹³ e Jorge et al.¹⁴ Com relação aos cocos gram-positivos, observou-se um predomínio de *S. aureus* e *S. epidermidis*, concordando com os relatos de Goldstein et al.¹⁵, Routh et al.¹⁶ e Slovenkai et al.¹⁷

A seleção e disseminação de microrganismos multirresistentes vêm ocorrendo tanto nos hospitais como na

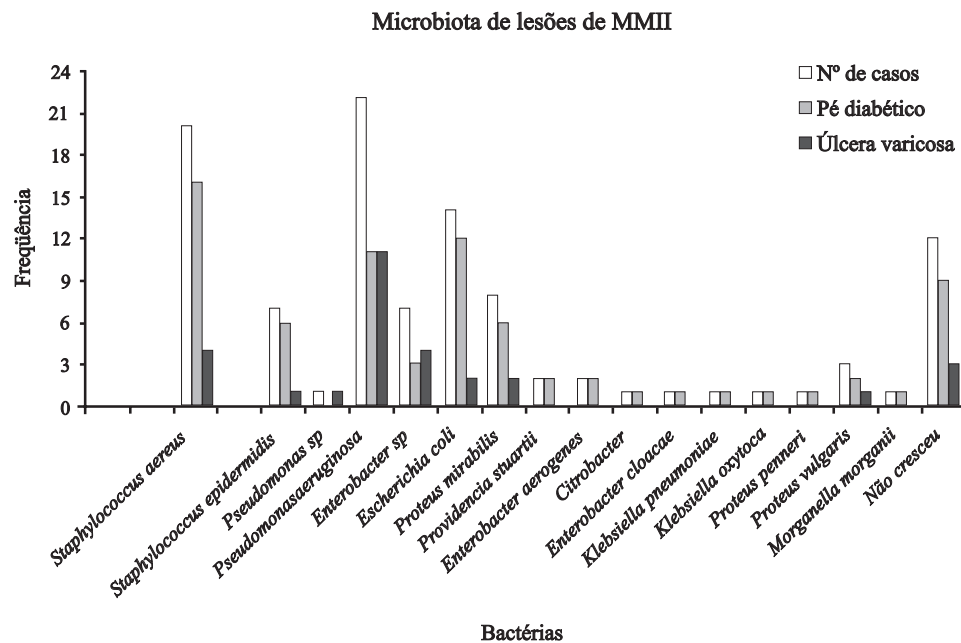


Figura 3 - Distribuição de bactérias isoladas de pacientes com pé diabético e/ou úlceras de estase venosa atendidos no hospital universitário de Goiânia

comunidade e representam importante desafio na terapêutica^{15,18-20}. Neste estudo, os *S. aureus* metilicilino-resistentes (MRSA) apresentaram uma elevada prevalência (69%), diferindo dos resultados de Goldstein et al.¹⁵ e Carvalho et al.¹⁸, que verificaram taxas inferiores a 20%. A taxa de isolamento de bactérias gram-negativas, neste estudo, foi similar à encontrada por Carvalho et al.¹⁸, quando avaliaram pacientes com pé diabético e isolaram principalmente enterobactérias.

Rocha et al.²¹ relataram o problema associado à multirresistência de bactérias gram-positivas e negativas, principalmente *Escherichia coli*, em casos de maior gravidade. A maioria dos estafilococos detectados neste estudo apresentou resistência a amoxicilina/clavulanato, cefalotina, oxacilina e clindamicina, similar ao descrito por Unachukwu et al.²⁰ e Rocha et al.²¹

Devido à evolução desfavorável de 10 pacientes portadores de pé diabético, coletas subsequentes foram realizadas (Tabela 2). Observou-se um predomínio de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo que a bactéria isolada na primeira coleta foi recuperada em apenas dois casos. Em quatro casos que evoluíram

para amputação de membro inferior, verificou-se a presença de *P. aeruginosa* e/ou *S. aureus*, concordando com Rocha et al.²¹, que citaram o pé diabético como principal causa de amputação de membros não-traumática.

O predomínio de bastonetes gram-negativos e estafilococos resistentes verificado neste estudo dificulta a escolha dos antimicrobianos para o tratamento empírico. Portanto, devem ser realizados cultura e antibiograma; no entanto, se esse procedimento for inviável, recomenda-se o uso de ampicilina/sulbactam em associação com piperacilina/tazobactam e de ciprofloxacina, quando não houver a suspeita de infecção por *Pseudomonas*.

Conclusão: Foi detectada microbiota mista das lesões de membros inferiores, com bactérias gram-positivas e negativas, sendo *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* as mais frequentes, com elevada resistência a diversos antimicrobianos e uma elevada taxa de MRSA (69%). De acordo com os resultados *in vitro*, ampicilina/sulbactam em associação a piperacilina/tazobactam poderia ser uma opção no tratamento *in vivo* na maioria dos casos de lesões de membros inferiores, bem como a ciprofloxacina, quando não houver suspeita de infecção por *Pseudomonas*.

Tabela 1 - Distribuição de bactérias isoladas de pacientes com pé diabético e/ou úlceras de estase venosa atendidos no hospital universitário de Goiânia (GO)

Bactéria	Nº de culturas	%	Pé diabético	%	Úlcera de estase venosa	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	19,23	16	15,38	4	3,84
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7	6,73	6	5,76	1	0,96
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22	21,15	11	10,57	11	10,57
<i>Pseudomonas sp</i>	1	0,96	0	-	1	0,96
<i>Escherichia coli</i>	14	13,46	12	11,53	2	1,92
<i>Proteus mirabilis</i>	8	7,69	6	5,76	2	1,92
<i>Proteus vulgaris</i>	3	2,88	2	1,92	1	0,96
<i>Proteus penneri</i>	1	0,96	1	0,96	0	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	1,92	2	1,92	0	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0,96	1	0,96	0	-
<i>Enterobacter sp</i>	7	6,73	3	2,88	4	3,84
<i>Providencia stuartii</i>	2	1,92	2	1,92	0	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0,96	1	0,96	0	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0,96	1	0,96	0	-
<i>Citrobacter sp</i>	1	0,96	1	0,96	0	-
<i>Morganella morganii</i>	1	0,96	1	0,96	0	-
Cultura negativa	12	11,54	9	8,65	3	28,84
Total	104	100	75	72,12	29	27,88

Agradecimentos

Aos orientadores.

Laboratório Professora Margarida Dobler Komma.

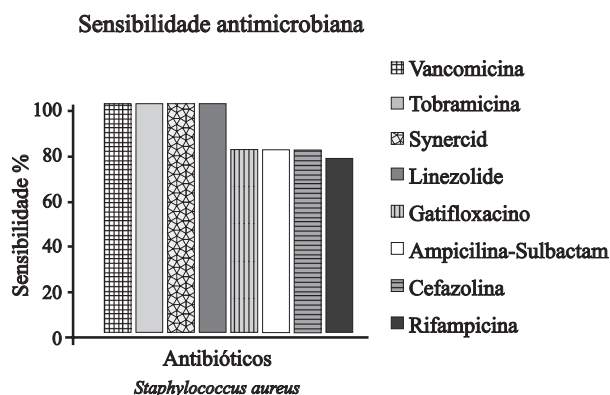
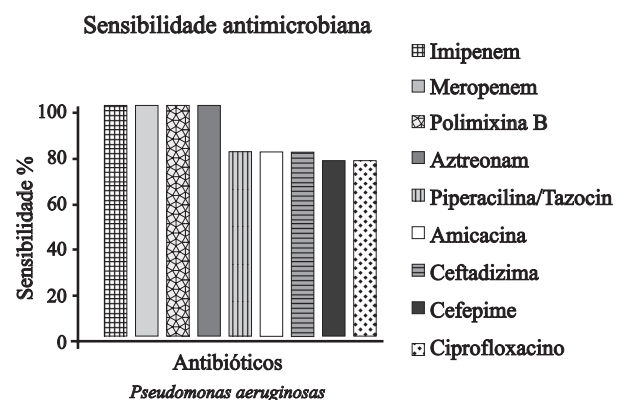
Laboratório de Análises clínicas do Hospital das Clínicas.

Equipe de Profissionais e técnicos do Pronto socorro do HC UFG.

Sr. José Jurandir de Moraes e Enf. Elisa Tiba Gomes pela fidelidade no auxílio ao atendimento do paciente no Pronto Socorro.

Tabela 2 - Bactérias isoladas das diferentes culturas de 10 pacientes portadores de pés diabéticos com evolução desfavorável

Paciente	Nº de culturas	Primeira cultura	Culturas subseqüentes
A	7	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Proteus mirabilis</i>
B	4	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>
C	8	<i>Citrobacter sp</i>	<i>S. epidermidis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>
D	2	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>
E	4	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
F	2	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>P. aeruginosa</i>
G	2	Não houve crescimento	<i>Escherichia coli</i>
H	2	Não houve crescimento	<i>Proteus mirabilis</i>
I	2	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Enterobacter sp</i>
J	2	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

**Figura 4** - Sensibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de lesões de membros inferiores de pacientes atendidos no pronto-socorro de um hospital universitário de Goiânia**Figura 5** - Sensibilidade antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* isolados de lesões de membros inferiores de pacientes atendidos no pronto-socorro de um hospital universitário de Goiânia

Ao CNPq pelo auxílio financeiro parcial à realização deste trabalho.

Referências

- Mayall RC, Mayall AC, Melo AV, Mayall JC, Mayall LC. Pé diabético. In: Maffei FHA. Doenças vasculares periféricas. Rio de Janeiro: MEDSI; 1987. p. 865-81.
- De Luccia N. Doença vascular e diabetes. J Vasc Bras. 2003;2:49-60.
- Vedolin AC, Schmitt CMD, Bredt CFG, et al. Pé diabético: estudo comparativo entre diferentes formas de apresentação clínica e tratamentos. Rev Angiol Cir Vasc. 2003;12:15-21.
- Armstrong DG, Lavery LA, Harkless LB. Who is at risk for diabetic foot ulceration? Clin Podiatr Med Surg. 1998;15:11-9.
- Margolis DJ, Kantor J, Berlin JA. Healing of diabetic neuropathic foot ulcers receiving standard treatment. A meta-analysis. Diabetes Care. 1999;22:692-5.
- Dormandy JA, Rutherford RB. Management of peripheral arterial disease (PAD). TASC Working Group. TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC). J Vasc Surg. 2000;31(1 Pt 2):S1-S296.

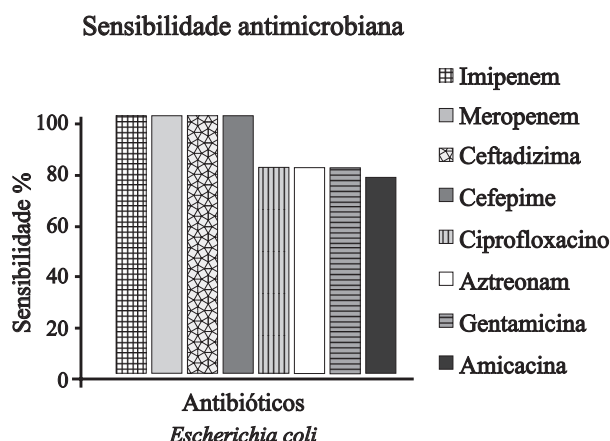


Figura 6 - Sensibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* isolada de lesões de membros inferiores de pacientes atendidos no pronto-socorro de um hospital universitário de Goiânia

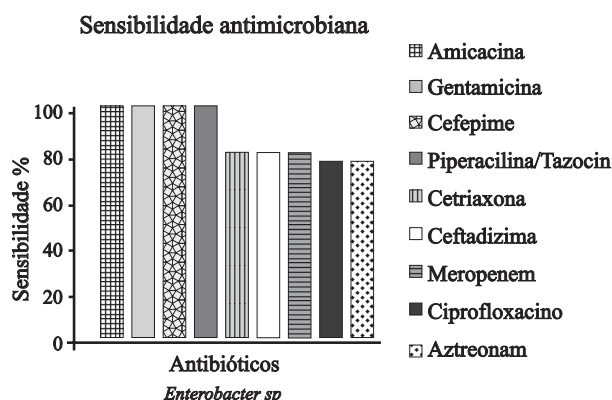


Figura 7 - Sensibilidade antimicrobiana de *Enterobacter sp* isolado de lesões de membros inferiores de pacientes atendidos no pronto-socorro de um hospital universitário de Goiânia

9. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Microbiologia médica. In: Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Microbiologia médica. 21ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p. 142-3.
10. Sader HS, Durazzo A. Terapia antimicrobiana nas infecções do pé diabético. J Vasc Bras. 2003;2:61-6.
11. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WCJ. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5ª ed. Medsi: Rio de Janeiro; 2001.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; fifteenth informational supplement. CLSI document M100-S15, Wayne, Pa, USA; 2005.
13. Assis TL, Formiga LCD, Filgueira AL, Mattos GA. Aspectos microbiológicos dos espaços interdigitais dos pés. II. Microbiota aeróbia potencialmente patogênica nas lesões interdigitais dos pés. An Bras Dermatol. 1984;59:61-6.
14. Jorge BH, Borges MF, Brito VN, Santos TGM, Thirone ACP. Análise clínica e evolução de 70 casos de lesões podais infectadas em pacientes diabéticos. Arq Bras Endocrinol Metab. 1999;43:366-72.
15. Goldstein EJ, Citron DM, Nesbit CA. Diabetic foot infections: bacteriology and activity of 10 oral antimicrobial agents against bacteria isolated from consecutive cases. Diabetes Care. 1996;19:638-41.
16. Routh HB, Bhowmik KR, Parish LC, Bhowmik NK. Diabetic foot infection. An Bras Dermatol. 1996;71:243-9.
17. Slovenkai MP. Foot problems in diabetes. Med Clin North Am. 1998;82:949-71.
18. Carvalho CBM, Neto RM, Aragão LP, Oliveira MM, Nogueira MB, Forti AC. Pé diabético: análise bacteriológica de 141 casos. Arq Bras Endocrinol Metab. 2004;48:406-13.
19. Guzmán-Blanco M, Casellas JM, Sader HS. Bacterial resistance to antimicrobial agents in Latin America. The giant is awakening. Infect Dis Clin North Am. 2000;14:67-81.
20. Unachukwu CN, Obunge OK, Odia OJ. The bacteriology of diabetic foot ulcers in Port Harcourt, Nigeria. Niger J Med. 2005;14:173-6.
21. Rocha JLL, Baggio HCC, Cunha CA, Niclewicz EA, Leite SAO, Baptista MIDK. Aspectos relevantes da interface entre diabetes mellitus e infecção. Arq Bras Endocrinol Metab. 2002;46:221-9.

Correspondência:

Fernando de Freitas Fernandes
Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás
Caixa Postal, 131
CEP 74605-050 – Goiânia, GO
E-mail: ffreitas@iptsp.ufg.br

7. Frade MAC, Cursi IB, Andrade FF, et al. Úlcera de perna: um estudo de casos em Juiz de Fora-MG (Brasil) e região. An Bras Dermatol. 2005;80:41-6.
8. Olin JW, Buesterlen KM, Childs MB, Seavey C, McHugh L, Griffiths RI. Medical costs of treating venous stasis ulcers: evidence from a retrospective cohort study. Vasc Med. 1999;4:1-7.