

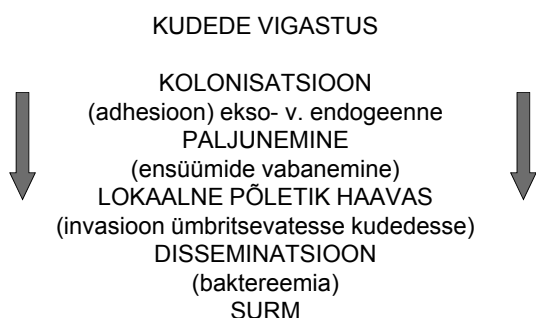
Haavainfektsioonide mikrobioloogia

Siiri Kõljalg
8.10.2008

Haavainfektsioon

- Kuidas tekib
- Millest sõltub
- Miks just nemad
- Kes seekord (laboratoorne diagnostika)

Infektsiooni kujunemine



Kust mikroobid tulevad?

- Eksogeenne
- Traumaatiline haav – keskkond
Operatsioonihaav – õhk, instrumendid
- Primaarne endogeenne
- Patsiendi enda indigeenne mikroflora
- Sekundaarne endogeenne
- Mikroobid, mis koloniseerisid patsienti haiglas (hospitaalinfektsioon)

Haavade mikrobioloogia

Mikroobide koosseis haavas muutub aja jooksul

- Äge haav varajases staadiumis: domineerib normaalne naha mikroflora
- Järgnevad *S. aureus* ja β -hemolüütilised streptokokid

Haavade mikrobioloogia

ca 4 nädala möödudes

- Haava koloniseerivad Gram-negatiivsed fakultatiivsed aeroobid
- Sagedasemad: *Proteus*, *E. coli* ja *Klebsiella*.
- Sügavamate kudede haaratusel: anaeroobid
- Sageli infektsioon polümükröobne (4-5)

Haavade mikrobioloogia

- Kroonilised haavad: sageli rohkem anaeroobe kui aeroobe

Aeroobsed Gram-negatiivsed mikroobid, sageli eksogeensed (vesi)
Pseudomonas, *Acinetobacter*,
Stenotrophomonas (Xanthomonas).

Haavade mikrobioloogia

- Haava sügavama kahjustuse korral toimub allasuva lihaskoe ja luude infitseerumine
- Osteomüeliit: enterobakterid ja anaeroobid, *Staphylococcus aureus*

Kirurgiliste haavade kategooriad

- Puhtad
 - Ei esine ägedat põletikku
 - Ei avata mikroobidega koloniseeritud siseelundeid
- Puhtad kontamineeritud
 - Avati mikroobidega normaalselt koloniseeritud elundeid
- Kontamineeritud
 - Äge põletik
 - Trauma <4 tundi
- Mustad
 - Mädapõletik
 - Siseelund perforatsioon
 - Trauma >4 tundi

Haavainfektsioonide tekitajad

Kirurgilised	Traumaatilised
<u>Puhtad kirurgilised</u> <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , CNS enterobakterid, anaeroobid	+ klostriidid, keskkonna bakterid
<u>Mustad kirurgilised</u> + enterobakterid, <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., anaeroobid	<u>Hammustused</u> hammustaja suu mikrofloora <i>Pasteurella</i> , <i>Eikenella</i> , <i>Capnocytophaga</i>
	<u>Põletused</u> <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E.coli</i> , enterobakterid, <i>Candida</i>

Haavade mikrobioloogia

Kokkuvõtteks:

- varased kroonilised haavad – peamiselt Gram-positiivsed MO
- Pikaajalised kroonilised haavad, millega kaasneb sügavamate kudede kahjustus – polümikroobne (4-5), anaeroobid, rohkem Gram-negatiivsed MO

Definitsioonid

Haava kolonisatsioon: paljunevate mikroobide esinemine haavas ilma patsienti kahjustamata

- Esineb väga sageli
- Mikroobid kuuluvad inimese naha normaalsesse mikrofloorasse

Staphylococcus epidermidis, teised koagulaas-negatiivsed stafülokokid, *Corynebacterium* sp., *Brevibacterium* sp., *Propionibacterium acnes*, *Pityrosporum* sp.

Definitsioonid

Haavainfektsioon: paljunevate mikroobide esinemine haavas, millega kaasneb patsienti kahjustamine

Kolonisatsioon → infektsioon

- Mikroobide arv
- Mikroobide virulentsusfaktorid
- Patsiendi vastupanuvõime

Infektsioon: $\frac{\text{MO kogus} \times \text{virulentsus}}{\text{pt. vastupanuvõime}}$

Mikroobide arv

- Sõltub mikroobi liigist

Enterococcus sp. ja *Candida* sp. isoleerimine haavast

Ravida:

- kui teisi patogeene ei esine
- esinevad kõrges kontsentratsioonis (10^6 PMÜ/g)

Mikroobide arv

- Sünergism - mõned mikroobide kombinatsioonid kahjustavad organismi rohkem
- N: Group B streptokokid (*S. agalactiae*) ja *Staphylococcus aureus*.

Mikroobide virulentsusfaktorid

- Mõnedel mikroobidel vähe virulentsusfaktoreid

Pseudomonas jt. mittefermenteerivad MO ei ole väga invasiivsed v.a. immuunsupresseeritud pt. korral

N: *Ecthyma gangrenosum* neutropeenilisel pt.

Oluline koekahjustus: endotoksiin, eksotoksiinid, ensüümid

Mikroobide virulentsusfaktorid

- Sünergism kahe MO liigi vahel
- B grupi streptokokid ja *Staphylococcus aureus*: sünergism kahe toksiini vahel põhjustab hemolüüsi

Patsiendi vastupanuvõime

- Peremeesorganismi vastupanuvõime on peamine faktor haavainfektsiooni tekkes

Lokaalsed faktorid

haava sügavus
haava pinna suurus
verevarustus
nekroos
võõrkeha

Süsteemsed faktorid

vanus
kaasnevad haigused
immuunsupressiivne ravi
toitumus

Stafülokokid

- Kaitse
 - Kihn – antifagotsütaarne
 - Polüsahhariidene limakiht – antifagotsütaarne
 - Proteiin A – seostub AKga, inhibeerib fagotsütoosi
 - Koagulaas – fibrinogeen lahustamatuks fibriniiks → fibrinikapsliga abstsess
 - Beeta-laktamaas

Stafülokokid

Rünnak

- Teihhoiinhape – endotoksiini taoline, tsütokiinide vabanemine, komplemendi aktivatsioon
- Peptidoglükaani kiht - komplemendi aktivatsioon, soodustab abstsesside teket
- DNA-aas – lõhub epiteelrakkude tuumasid
- Lipaas – siseneb nahka ja nahaalusesse koesse → pindmised nahainfektsioonid
- Toksiinid (hemolüsiinid, leukotsidiin) – vererakkude lüüs, koekahjustus, soodustavad abstsesside kujunemist

Streptococcus pyogenes

- Kaitse
 - Kihn
 - M-proteiin – adhesioon; väldib sisenemist fagotsüütidesse; seostub AKga → inhibeerib fagotsütoosi
 - Lipoteihhoiinhape - adhesioon
 - Fibronektiin, vitronektiin, fibrinogeen – kinnitumine

Streptococcus pyogenes

- Rünnak
 - Lipoteihhoiinhape - komplemendi aktivatsioon
 - Streptokinaas (fibrinolüsiin) – lõhustab fibrini → mäda vedel, soodustab mikroobi levikut kudedesse
 - Hüaluronidaas e. levikufaktor – rakkudevahelise hüaluroonhappe lõhustamine
 - Superantigeen – eksotoksiin, mis aktiveerib massiliselt ja mitte-spetsiifiliselt T-rakke → tsütokiinide üleproduktsoon → laialdased koekahjustused – nekrotiseeruv fastsiit
 - Tavaliselt aktiveerub AG toimele 0.001 – 0.0001% T-rakkudest, superantigeeni toimele kuni 20% T-rakkudest

Pseudomonas

- Kaitse
 - Piliid
 - Kihn
 - Antibiootikumresistentsus

Pseudomonas

Rünnak

- Elastaas – elastsete kiudude destruktsioon, hemorraagiad, kudedesse sisenemine
- Proteaasid – lagundavad kudesid, lõhustavad sekretoorseid AK
- Fosfolipaas C – lõhustab rakumembraanide lipiide
- Glükolipiid - lõhustab rakumembraanide letsitiini
- Leukotsidiin – lõhustab lümfotsüüte ja neutrofiile
- Eksotoksiin A – eukorüootses rakus proteiini sünteesi lakkamine, koe nekroos
- LPS – komplemendi aktiveerimine – üldine kahjustamine (palavik, šokk)

Enterobakterid

• Kaitse

- Polüsahhariidne kapsel
- Fimbriad
- Adhesiinid
- Antibiootikumresistentsus, ESBL

Enterobakterid

• Rünnak

- Ekstratsellulaarsed toksilised kompleksid
Klebsiella
- Hemolüsiin
- Proteaasid
- LPS – komplemendi aktiveerimine – üldine kahjustamine

Invasiivsed põletushaavade infektsioonid

• Seened

- *Candida species*
- *Aspergillus species*
- *Fusarium species*
- Phaeohyphomycetes (dark molds)
- Zygomycetes (*Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*)

• Viirused

- Herpes simplex virus
- Varicella-zoster virus

Sporotrihhoos – traumaatilised haavad
roosikasvatajatel

Sporothrix schenckii

Clostridium perfringens

• Rünnak

- Alfa-toksiin - fosfolipaas C - lõhustab rakumembraanide lipiide – vererakkude lüüs, veresoonte suurenenud läbilaskvus, kudede destruktsioon
- Toksiinid: beeta, epsilon, iota, delta, theta, kappa, lambda
- Ensüümid: hüaluronidaas, DNA.aas, neuraminidaas
- *C. septicum*, *C. tertium*, *C. histolyticum*, *C. novy*, *S. sordelli*

Biofilm

Planktonilised
Kinnitunud

Quorum sensing - geeni ekspressioon
vastavalt mikroobide tihedusele – geenide
sisse/väljalülitamine

Biofilm

- Organismi kaitsemehhanismid ei toimi
- Antibiootikumid ei toimi
- Kroonilise kuluga
- Raskem kultiveerida
- Oht infektsioosetele metastaasidele

Mikroobid ja kroonilised haavad

- Kõik kroonilised haavad on bakteritega kontamineeritud
- Haava paranemine toimub bakterite juuresolekul
- Mõned bakterid soodustavad haavade paranemist
- Haava paranemist mõjutab mitte bakteri olemasolu, vaid bakteri ja patsiendi vastastikune toime

Mikrobioloogiline diagnostika

- http://www.kliinikum.ee/yhendlabor/mikrobiol_juhend.htm

Koetükid	Steriilne transportsöötmega madal katsut	Koetükk suruda pintsettidega transportsöötmesse	+2-8°C juures, anaeroobid toatemperatuuril
-----------------	--	---	--

Punktsiooni-materjalid	Steriilne konteiner, BACTEC PLUS AEROBIC või BACTEC PLUS ANAEROBIC	Punkteerida ja aspireerida materjal süstlasse. Mädane punktaat saata tühjas konteineris, seroosne eritis BACTEC pudelis.	BACTEC pudelid +37°C juures, mäda konteineris +2-8°C juures
-------------------------------	--	--	---

Mikrobioloogiline diagnostika

Mäda, haava eritis	Steriilne tampooni ja transportsöötmega katsut	Haava pind puhastada steriilse füsioloogilise lahusega, eemaldada nekrotiseerunud kude. Materjali võtta tampooniga võimalikult sügavalt haavast. Suruda tampoon söötmesse.	+2-8°C juures, anaeroobid toatemperatuuril
---------------------------	--	--	--

- Haavaeritis elus infitseeritud kude
- Mäda aspireerida sügavalt süstlaga
- Kude biopsia terve koe piirilt 3 – 4mm

Mikrobioloogiline diagnostika

- Algmaterjali preparaat Gram/akridiinoranž
- Kultiveerimine
- Samastamine, hulga määramine (poolkvantitatiivne, kvantitatiivne)
- Antibiootikum-tundlikkus

+1 +2
 +3
 +4

Antibiootikum-tundlikkus

1. Millega
 Disk-difusioon
 E-test
 mittefermenteerivad gram-negatiivsed bakterid anaeroobid
2. Mille suhtes
 – Põhirida
 – Reserv (IRO; veri, liikvor)
 – Lisad: uriin, silm
3. Kellele tulemus
 Raviarstile
 Laborile resistentsuse jälgimiseks

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCLS)

Mikrobioloogiline diagnostika

- Kvantitatiivne PCR (real time PCR)
16S rRNA geeni amplifikatsioon
- Mõõdab DNA kogust iga tsükli järel
 - mikroobide kogus proovis
 - mikroobide liigid/perekonnad (võrdlus andmebaasidega)
 - tulemus 3-5 tunniga

Contra

- Interpretatsioon
- Antibiootikumtundlikkus

Mikrobioloogiline diagnostika

Vastuse interpretatsioon

- Infektsiooni iseloom
- Materjali võtmise koht, aerobne/anaerobne
- Isoleeritud patogeen
- Patogeeni hulk
- Patogeeni(de) antibiootikumtundlikkus

Laboratoorne diagnostika raviarsti ja labori koostöö!

- Materjali võtmine
- Materjali saatmine
- Materjali analüüsimine laboris
- Antibiootikumtundlikkuse määramine
- Vastuse väljastamine

Alati võimalus konsulteerida laboritöötajatega