



Національний фармацевтичний університет
Кафедра мікробіології, вірусології та імунології

Опортуністичні інфекції шкіри та слизових оболонок

Навчальна дисципліна

«Клінічна мікробіологія»

Спеціальність

224 Технології медичної діагностики та лікування

План лекції

1. Шкіра, нормальна мікрофлора шкіри
2. Інфекції шкірних покривів
3. Гнійні та гнійно-запальні інфекції
4. Етіологія ранової інфекції
5. Етіологія опікової інфекції
6. Мікробіологічні дослідження ран

Питання для самостійного вивчення

- 1. Слизові оболонки. Нормальна мікрофлора слизових оболонок.**
- 2. Опортуністичні і нфекції слизових оболонок.**
- 3. Мікробіологічні дослідження**

Рекомендована література

- Мікробіологія: Підр. для студ. / І. Л.Дикий, І. Ю.Холупяк, Н. Ю. Шевельова, та ін. 2-е вид.– Х. : Вид-во НФаУ, 2006. – 432 с.
- Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад. / За редакцією В.П. Широбокова/ Видання 2-е. Вінниця: Нова Книга. 2011. 952 с.
- Практична мікробіологія: Посібник/ С.І. Климнюк та ін.; Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. 440 с.
- Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии / J. Vandepitile et.al. ВОЗ, Женева, 2004. 132 с.
- Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений . приказ Минздрава СССР от 22.04.85 N 535
- Хирургические инфекции: руководство / Под ред. И.А. Ерюхина, Б.Р. Гельфанда, С.А. Шляпникова. СПб: Питер, 2003. 864 с.

Шкіра

зовнішній покрив організму, який захищає тіло від широкого спектру зовнішніх впливів, бере участь в диханні, терморегуляції, обмінних і багатьох інших процесах. Це масивне рецепторне поле різних видів поверхневої чутливості.

Її властивості **перешкоджають колонізації** більшості мікробних патогенів.

Нормофлора шкіри містить різних представників.

Залежно від місця локалізації, її кількість коливається від 1000 / см² (спина) до понад 10 млн (пахова і пахвова області)

Нормофлора шкіри

Автохтонна (постійна) мікрофлора представлена як аеробними так і анаеробними мікроорганізмами. Домінують

коки (мікро-, стафіло- і стрептококи)

діфтероїди.

дріжджоподібні гриби (області шкірних складок),

кислотостійкі непатогенні мікобактерії, спороутворюючі палички
(в зонах скупчення сальних залоз (геніталії, вухо))

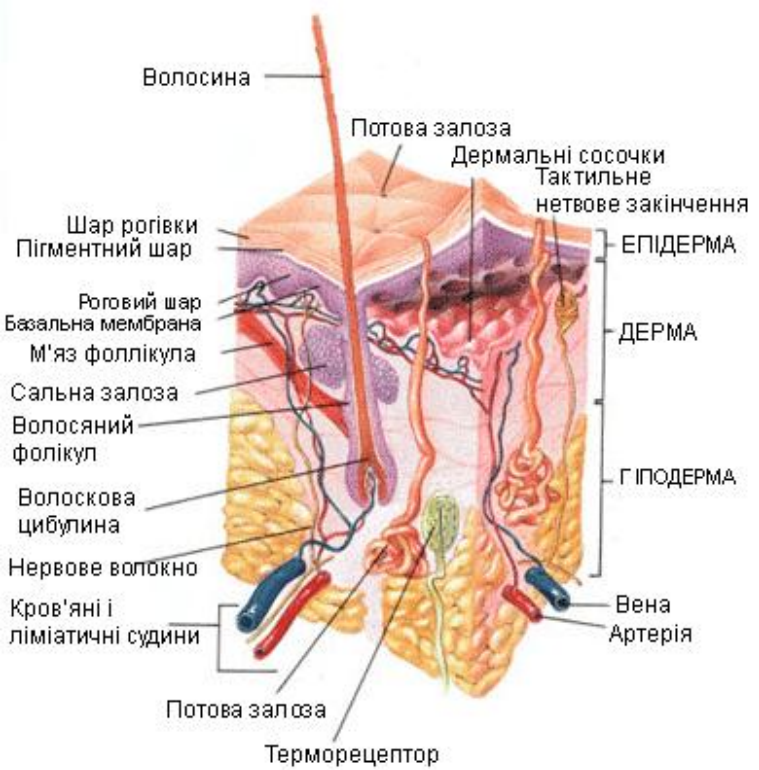
За рахунок утворення біоплівки аутофлора стійка до дії факторів зовнішнього середовища.

Елімінація **транзиторної мікрофлори** відбувається за рахунок кислого середовища шкіри, наявності жирних кислот, присутності лізоциму

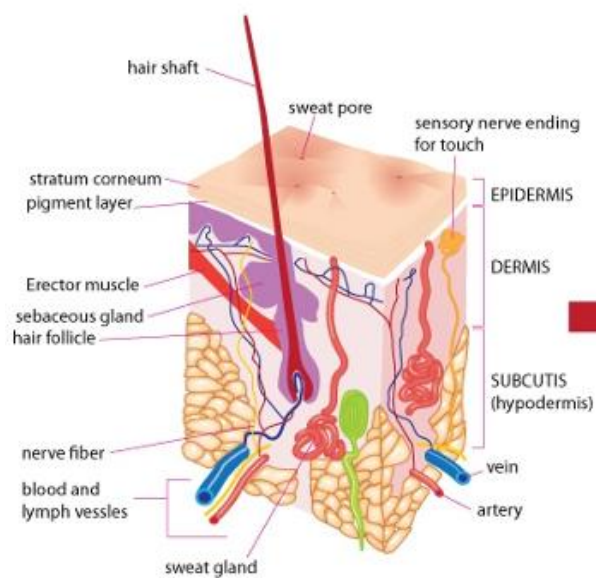
Діфтероїди - грам + нерухливі палички роду *Corynebacterium* та *Propionibacterium*

Стафілококи - коагулазонегативні види, факультативні анаероби

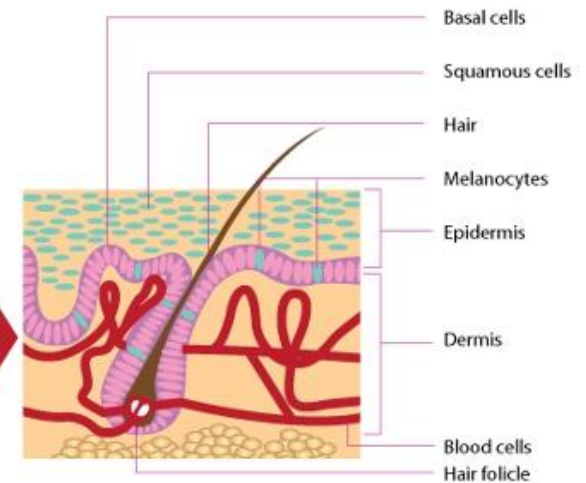
Дріжджоподібні гриби - рід *Malassezia* (*Pityrosporum*), які потребують наявності ліпідних субстанцій для зростання

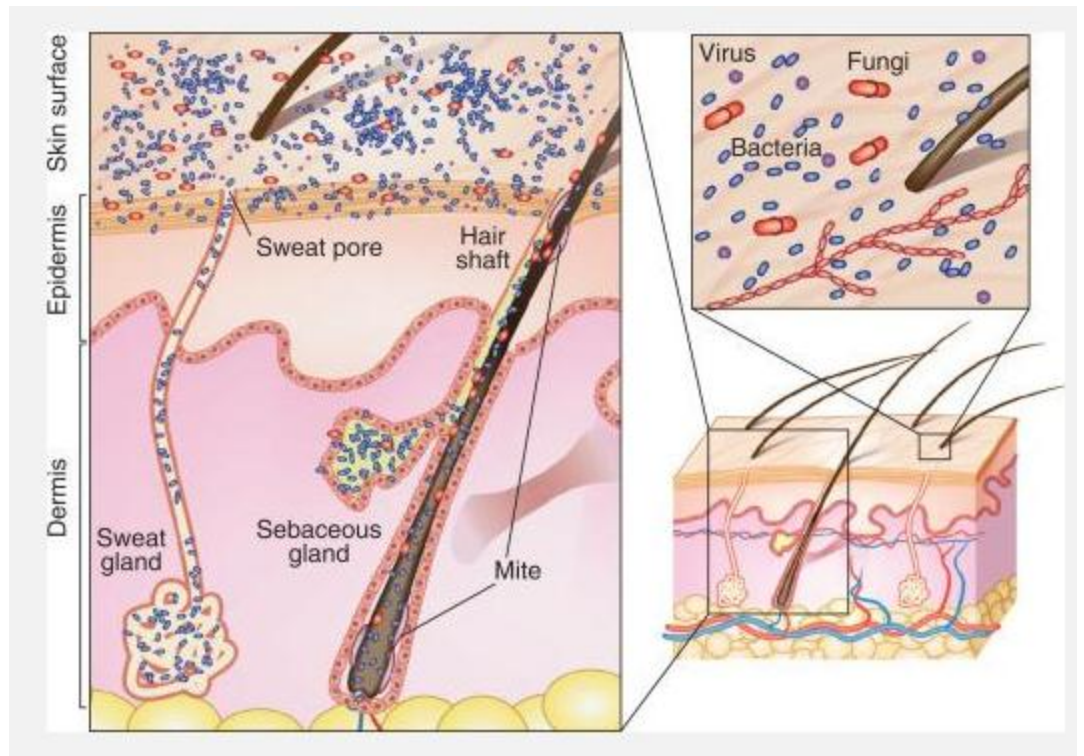
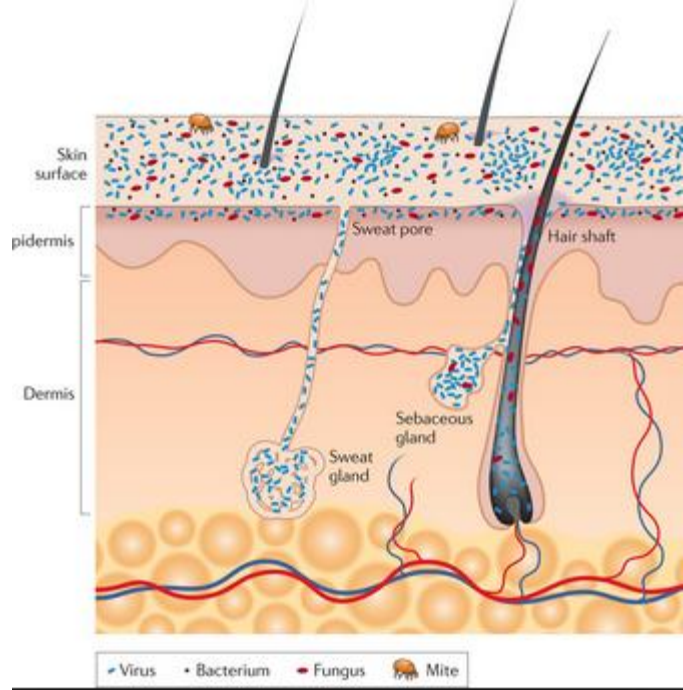


Cross section of skin



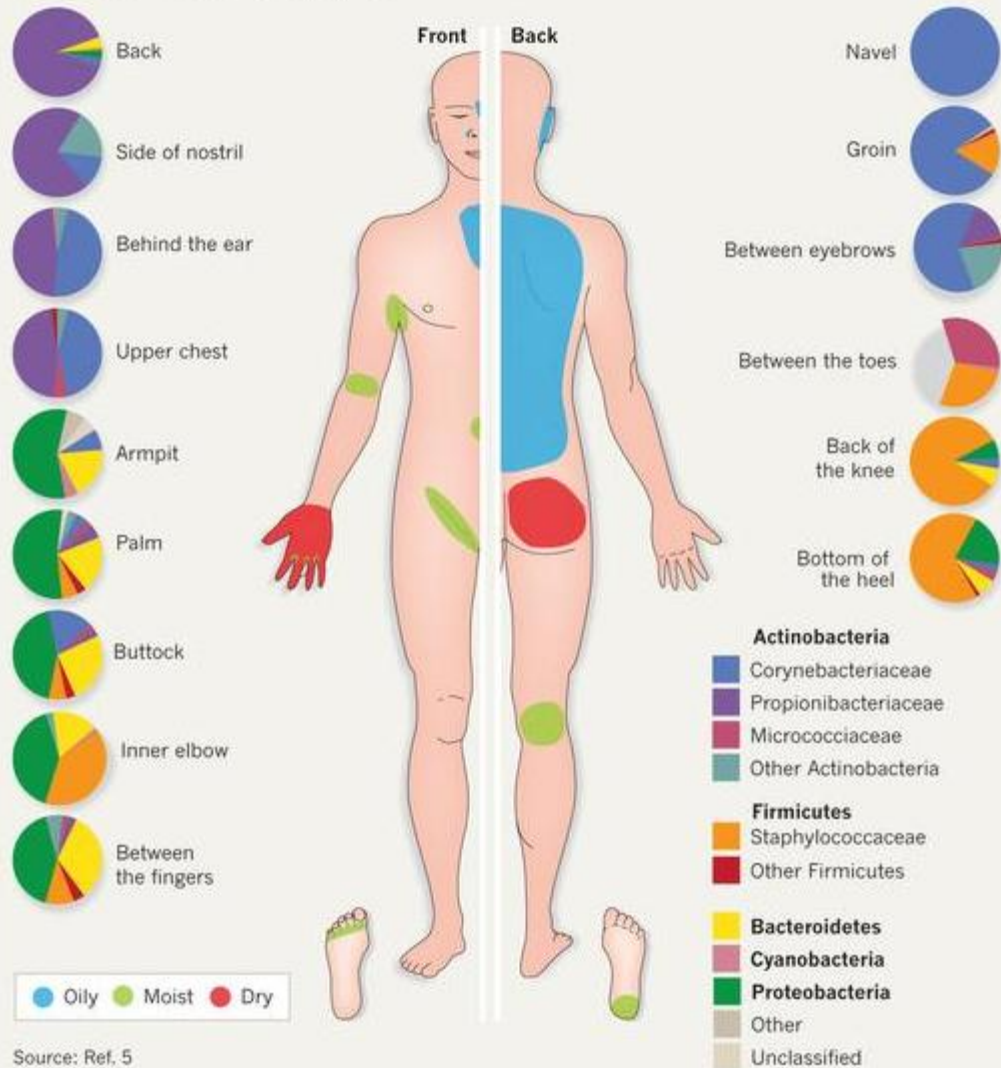
Cross section of skin showing cell types

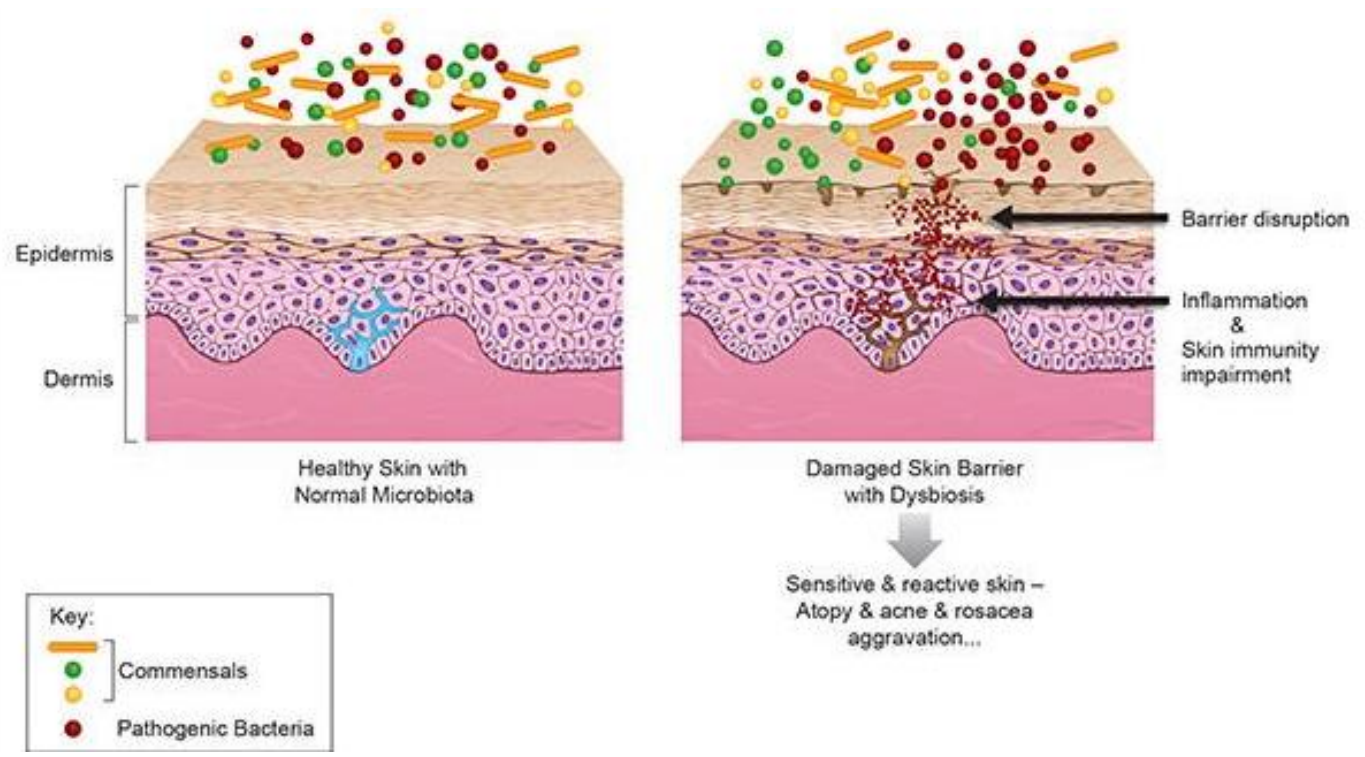




MICROBIOME MAP

The human skin is rich with bacteria. The population and ratios vary by region, and depend on the whether the skin site is oily, moist or dry.





НМ шкіри (колонії на поживному середовищі)



Захворювання	Мікроорганізм-збудник
<p>гнійно-запальні захворювання шкіри, підшкірної жирової клітковини і інших тканин (фурункульоз, карбункульоз, абсцес, піодермія, флегмона, панарицій тощо)</p> <p>ранові інфекції – травматичні, хірургічні,</p> <p>опікові інфекції,</p> <p>Інфекції від укусів тварин та людей,</p> <p>Пов'язані з застосуванням мед. інструментарію</p>	<p>Стафілококи, стрептококи, ентеробактерії, клебсієли, ентерококи, кандіди, бактероїди, псевдомонади тощо</p>

Інфекції розвиваються, коли знижується захисна функція шкіри (травми, запалення, порушення кровопостачання та ін.) за наявності чинників, що призводять до дефектів поверхневого рогового шару шкіри.

Будь-які пошкодження тканин формують вхідні ворота для **ендогенних і екзогенних мікроорганізмів** і розвитку різноманітних інфекційних процесів.



Їх патогенність буде визначати рівень вірулентності або тяжкість даної інфекції а також і ступінь інвазивності мікроорганізму.

Наприклад, у стрептококового нагноєння висока вірулентність і інвазивність при інфікуванні опікової рани.

Характер інфекції визначають

- кількість бактерій, що потрапляють в рану,
- фактори патогенності збудника - бактеріальні екзотоксини,
- характер поверхневих антигенів.

Важливо визначити резервуар джерела інфекції

Принцип класифікації	Види інфекцій
За видом мікроорганізму	Бактерійна Грибкова Протозойна Вірусна
За зовнішньою формою бактерій-збудників	Спричинена кокоподібними бактеріями Спричинена паличкоподібними бактеріями Спричинена звивистими бактеріями
За видом бактерій	Стафілококова Стрептококова Протейна Псевдомонадна Колібацилярна Пневмококова Ентерококова Інші
За характером бактерійних токсинів	Грампозитивна Грамнегативна
За типом дихання бактерій	Аеробна Анаеробна

За кількістю збудників	Моноінфекція Поліінфекція Змішана
За специфічністю запалення	Неспецифічна Специфічна
За джерелом походження збудників	Екзогенна Ендогенна
За шляхами потрапляння збудників в організм	Повітряна Краплинна Контактна Експлантаційна Транслокаційна
За шляхом поширення збудників в організмі	Гематогенна Лімфогенна Тканинна
За перебігом	Гостра Хронічна
За часом інфікування	Первинна Вторинна
За характером ураження	Місцева Загальна

За масштабом ураження	Відмежована Невідмежована
За глибиною ураження	Поверхнева (епіфасціальна) Глибока (субфасціальна)
За топичністю ураження	Шкіри та підшкірної жирової клітковини Фасціальньо-апоневротичних структур М'язових структур Лімфатичних структур Глибоких клітковинних просторів Залоз Кісток і суглобів

Гнійні або гнійно-запальні інфекції

захворювання, що супроводжуються розвитком гнійного або серозно-гнійного запалення мікробної етіології.

флегмона, ектіма, імпетиго, фолікуліт, фурункульоз та ін.

Гнійні інфекції можуть бути

- гострі
- хронічні
- місцеві (локальні)
- системні
- генералізовані

Локальні і системні поділяють в свою чергу на групи, що розрізняються за походженням, локалізацією та етіологією

Класифікують як

- Первинні піодермії
- інфекції підшкірної клітковини
- Некротичні інфекції

Первинні піодермії

зазвичай викликаються широким спектром збудників .

Найчастіше піогенними бактеріями *S. aureus*, *S. pyogenes*

Вторинні інфекції розвиваються при наявності уражень (хірургічні, травматичні, виразкові), які грають роль первинних воріт для мікроорганізмів.

Вони зазвичай полімікробні і поширюються на підшкірні тканини

Діабетична стопа (DFI) зазвичай починається з раневого ураження і розвивається до гнійно-некротичного процесу. При цьому важливу роль відіграють **анаеробні бактерії**, що необхідно враховувати при проведенні лікування. Інфекція асоційована. Провідними збудниками виступають грампозитивні коки, стафілококи. В більшості хронічних випадків **ДС** бере участь *Pseudomonas aeruginosa*.

Некротичні ураження шкіри асоціюють із стрептококами, рідше - MRSA або *Klebsiella spp* . Також можуть бути полімікробними.

Етіологія **ранової інфекції**

Етіологічна структура ранової інфекції залежить від типу і місця локалізації рани, її типу (механічна, термічна, хірургічна, кушена тощо), часу нанесення, умов перебування людини під час травмування.

При побутових, виробничих, бойових пораненнях

мікроорганізми проникають в рану з поверхні знаряддя, одягу, пошкодженої ділянки шкіри і органів, що містять власну мікрофлору.

Ці умовно-патогенні мікроорганізми мають

- **низьку вірулентність**
- **високу чутливість до антибіотиків і антисептиків**

Під час перебування в лікарняному стаціонарі

може відбуватися інфікування рани іншими видами збудників або тим же видом, але іншим **госпітальним ековаром**.

Як правило, вони **стійкі до факторів неспецифічного захисту організму господаря і антимікробних препаратів**.

В результаті відбувається витіснення позалікарняних варіантів з рани.

При проникненні мікробів у рану

Велика частина їх гине за рахунок фагоцитозу, а частина їх пристосовується.

Через 1-2 тижні в рані переважає кокова флора.

Так звана **мікрофлора рани** - це та асоціація мікробів, яка залишилася в рані через деякий час після поранення внаслідок природного відбору.

Мікробне забруднення рани – це ще не ранова інфекція

Нагноєння рани - це фізіологічна реакція організму, спрямована на загоєння рани; при нагноєнні рани мікроби харчуються мертвими тканинами, утилізують їх, викликають розвиток грануляцій. **Грануляції** містять мало формених елементів, але мають багато судин, по яких прибувають фібробласти, які потім стають фіброцитами, що складають основу рубцевої тканини.

Інфекції рани - результат взаємодії мікро - і макроорганізму, що викликає запалення і ознаки загальної реакції організму у вигляді болю, лихоманки, слабкості, нудоти і відповідної реакції крові.

Мікробне забруднення ран

- **Первинне**

в момент поранення.

- **Вторинне**

при необережному поведженні з раною,

відсутності пов'язки або наявності нестерильної пов'язки.

На першому етапі

Збудниками гнійно-запальних процесів при пораненнях шкіри і м'яких тканин є **золотистий стафілокок** і **піогенний стрептокок**.

Рідше - **епідермальний стафілокок**, **протей**, **синьогнійна паличка**, **ентеробактерії**, **бактероїди**.

У цих випадках в рані часто виявляються **монопопуляції мікроорганізмів**

На наступних етапах

зростає відсоток **змішаних інфекцій**, часті компоненти мікробних асоціацій:

кишкова паличка, клебсієли, ентеробактери, протей, синьогнійна паличка, дріжджоподібні гриби, аспорогенні анаероби.

При цьому відбувається **зміна** чутливих до антибіотиків і антисептиків бактерій на полірезистентні.

При пораненнях промежини, малого таза і черевної порожнини з ушкодженнями внутрішніх органів збільшується кількість

неклостидіальних анаеробів, бактероїдів *Bacteroides spp.*, превотелл *Prevotella spp.*, а також ентеробактерій, псевдомонад і їх асоціацій.

Хірургічні ранові інфекції діляться на:

- ендогенні
- екзогенні
- первинні
- вторинні

При ендогенному інфікуванні

збудники потрапляють в рану з шкіри в області операційного поля, розкритих інфекційних вогнищ і органів, що містять власну мікрофлору.

Видовий склад збудників в цьому випадку відповідає такому оперованих тканин і органів.

Первинна операційна інфекція рани

може виникнути в результаті **екзогенного** занесення збудника при оперативному втручанні.

У цих випадках збудниками ранової інфекції стають лікарняні штами, які циркулюють в даному відділенні.

Вторинна ранова інфекція

як і первинна на пізньому етапі розвитку, в основному обумовлена лікарняними варіантами бактерій.

Вона частіше носить змішаний характер з переважанням грамнегативних бактерій.

Для септичної рани характерні



- блідість,
- набряклість,
- млявість і кровоточивість грануляцій,
- сухість і недостача ранового вмісту, котрий має брудно-каламутний колір і гнильний запах.

Анаеробна ранова інфекція

біль в рані, наростання набряку кінцівки,
кінцівка набуває синюшого забарвлення,
температура шкіри знижується,
частота пульсу набагато випереджає температуру тіла,
зміни психіки - ейфорія, безсоння.

Кардіальні симптоми - поява підшкірної емфіземи, жовтушність шкіри, м'язи в рані набувають коричнево-червоний колір і не кровоточать.



Етіологія опікової інфекції

багато в чому близька до ранової.

Інфікування опікової рани відбувається

ендогенно та екзогенно – з

непошкоджених ділянок шкіри або слизової оболонки, з одягу, з повітря і інших об'єктів зовнішнього середовища.

У стаціонарі позалікарняна мікрофлора замінюється лікарняними ековарами

Збудники опікової інфекції

- Стафілококи (найчастіше *S. aureus*, MRSA)
- синьогнійна паличка (*P. aeruginosa*)
- піогенний стрептокок
- Епідермальний стафілокок
- кишкова паличка та ін. **Грамнегативні бактерії** – *Proteus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Providencia*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Haemophilus* При глибоких опіках - анаеробні бактерії *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Prevotella melaninogenica*
- Нозокоміальні штами - частіше *Enterococcus faecalis*, *E. Faecium* (природньо стійкі до більшості антибіотиків)
- У деяких випадках – *Bacillus spp.*
- Гриби – *Candida* (частіше з ендогенних джерел) , *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium* (з навколишніх предметів, вентиляційних систем)

Для опікової інфекції характерні:

- часта присутність в рані декількох видів мікроорганізмів
- виражена гетерогенність їх популяцій
- висока стійкість до антимікробних препаратів
- постійна зміна видового і варіантного складу збудників
- Найчастіше ускладнення сепсисом з високою летальністю.



Table 41. Laboratory Diagnosis of Burn Wound Infections

Etiologic Agents	Diagnostic Procedures	Optimum Specimens	Transport Issues and Optimal Transport Time
Bacterial			
<i>Staphylococcus aureus</i>	Aerobic, quantitative culture/AST	Blood culture	RT, <12 h, aerobic
Coagulase-negative staphylococci		Surface swab	RT, <2 h, transport medium
<i>Enterococcus</i> spp	Histopathology	Tissue (punch biopsy)	No formalin, keep moist
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Tissue (punch biopsy)	Submit in formalin, RT, 2 h
<i>Escherichia coli</i>	Anaerobic culture	Tissue biopsy or aspirate (swab may not represent the disease process)	Anaerobic transport tubes, pre-reduced media; RT, <2 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NAAT for MRSA and <i>S. aureus</i> only	Swab from manufacturer ^b	Laboratory-provided transport device, RT, <2 h
<i>Serratia marcescens</i>			
<i>Proteus</i> spp			
<i>Aeromonas hydrophila</i>			
<i>Bacteroides</i> spp and other anaerobes			
Fungi			
<i>Candida</i> spp	Fungal culture	Tissue biopsy	RT, <30 min, no formalin, keep moist
<i>Aspergillus</i> spp	Fungal blood culture	Blood; 2-4 cultures per 24-h period	Lysis-centrifugation tube or broth-based blood culture bottles, RT, <2 h
<i>Fusarium</i> spp			
<i>Alternaria</i> spp			
Zygomycetes			
Viruses			
Herpes simplex virus	Tissue culture	Tissue (biopsy/aspirate)	Viral transport medium or laboratory-provided transport device
Cytomegalovirus	NAAT, where applicable and laboratory-validated		
Varicella zoster virus			

Abbreviations: AST, antimicrobial susceptibility test; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; NAAT, nucleic acid amplification test; RT, room temperature.

^aElectrical burns; potential for transmission from leeches.

^bXpert MRSA/*S. aureus* skin and soft tissue infection (Cepheid, Sunnyvale, California).

Table 1. Transport Issues (General Guide)^a

Specimen Type	Specimen Required	Collection Device, Temperature, and Ideal Transport Time
Aerobic bacterial culture	Tissue, fluid, aspirate, biopsy, etc	Sterile container, RT, immediately
	Swab (second choice); flocked swabs are recommended	Swab transport device, RT, 2 h
Aerobic and anaerobic bacterial culture	Tissue, fluid, aspirate, biopsy, etc	Sterile anaerobic container, RT, immediately
	Swab (second choice); flocked swabs are effective	Anaerobic swab transport device, RT, 2 h
Fungus culture; AFB culture	Tissue, fluid, aspirate, biopsy, etc	Sterile container, RT, 2 h
	Swab (second choice) (for yeast and superficial mycobacterial infections only)	Swab transport device, RT, 2 h
Virus culture	Tissue, fluid, aspirate, biopsy, etc	Viral transport media, on ice, immediately
	Swab; flocked swabs are recommended	Virus swab transport device, RT, 2 h
Suspected agent of bioterrorism	Refer to CDC website for specimen collection and shipping: https://emergency.cdc.gov/labissues/index.asp	
Serology	5 mL serum	Clot tube, RT, 2 h
Antigen test	As described in the laboratory specimen collection manual	Closed container, RT, 2 h
NAAT	5 mL plasma	EDTA tube, RT, 2 h
	Other specimen, ie, viral transport medium	Closed container, RT, 2 h

Abbreviations: AFB, acid-fast bacilli; CDC, Centers for Disease Control and Prevention; EDTA, ethylenediaminetetraacetic acid; NAAT, nucleic acid amplification test; RT, room temperature.

^aContact the microbiology laboratory regarding appropriate collection and transport devices and procedures as transport media such as Cary-Blair or parasite preservative transport for stool specimens, boric acid for urines, and specialized containers for *Mycobacterium tuberculosis* are often critical for successful examination. The time from collection to transport listed will optimize results; longer times may compromise results.

Мікробіологічні дослідження ран

Відносяться до найскладніших

При відборі матеріалу з рани **правильна методика має вирішальне значення для отримання надійного результату.**

1. До забору матеріалу будь-яким способом **рану необхідно ретельно підготувати**
2. **Необхідно уникати** наявності антибіотиків, антисептиків і детриту, що спотворює результати культивування
3. **Біоматеріал слід брати з глибини рани і з її країв**, так як збудники інфекції концентруються саме в цих місцях.
4. В разі необхідності, **забирати матеріал безпосередньо перед застосуванням антибіотиків і антисептиків**
5. **Максимальне наближення до вогнища інфекції**
6. **Збереження життєздатності бактерій під час транспортування, але запобігання їх розмноження.**

При появі гнійно-запального процесу в рані відбирають її вміст **(ранова рідина, гній, біоптати=шматочки живих інфікованих тканин, грануляції, м'язи та ін.)**

ВЗЯТТЯ МАТЕРІАЛУ проводить лікар **при дотриманні правил асептики.**

- 1. Шкіру навколо рани попередньо обробляють спиртом або іншим антисептиком.**
- 2. Некротичні маси, детрит та гній видаляють стерильною серветкою.**
- 3. Рекомендується брати проби крові на стерильність для виключення вторинної системної інфекції**
- 4. Застосовувати молекулярні методи для виявлення вірусів, MRSA тощо**

Відбір ранової рідини

Метод застосовують для отримання матеріалу з закритих абсцесів та глибоких ран (кишень)

- Проводять аспірацію вмісту рани за допомогою шприця з голкою.
- Якщо аспірат отримати не вдається, підшкірно вводять стерильний фізрозчин і повторюють процедуру
- Із шприців видаляють повітря
- Голку згинають або вміщують у резинову стерильну пробку для запобігання доступу повітря

Відбір тампонами

Тампони використовують при дослідженні ран, які повільно загоюються, та поверхневих ран (виразок) – що **потребують доволі частих досліджень**

1. Матеріал з рани беруть **2 стерильними ватними тампонами**.
2. Взяття матеріалу стерильним тампоном проводять **круговими обертовими рухами від центру до периферії по поверхні рани**.
3. **Один тампон використовують для мікроскопії, а інший для посіву**.
4. Для адекватного кількісного обліку **тампоном беруть матеріал 2 рази за тиждень з однієї локалізації**

Обмеження відбору тампонами.

- **Високий ризик поверхневої контамінації мікроорганізмами, що колонізують поверхню рани,**
- **Обмежений об'єм проби (500 мкл), особливо в разі грибової і мікобактеріальної інфекції**

Біопсійний матеріал

Біопсійний матеріал відбирають у межах живих тканин з глибини рани

Біопсійний матеріал досліджують паралельно з гістопатологічним тестуванням

Біопсійні проби необхідно досліджувати

- у хворих, які потребують пресадки тканин
- при наявності хронічних ранових ушкоджень,
- при формуванні біоплівок

Для кількісної оцінки мікробного обсіменіння біопсійний матеріал в асептичних умовах

- зважують,
- гомогенізують,
- готують серійні розведення,
- засівають на селективні середовища
- інкубують в аеробних і анаеробних умовах

Транспортування матеріалу

Найкращі результати одержують при **негайній доставці біоматеріалу до лабораторії та негайному початку досліджень**

Оптимальним вважається

Не більше 2 годин після забору матеріалу

Транспортують **ПРИ КІМНАТНІЙ ТЕМПЕРАТУРІ**

Шприці – доставляють негайно

Тампони відразу після забору матеріалу вміщують у транспортне середовище (для запобігання висиханню)

Транспортні середовища підтримують окісно-відновлювальний потенціал для збереження життєздатності анаеробів та інших мікроорганізмів протягом 48 годин, попереджують передчасне розмноження мікроорганізмів

Приклади:

комерційні середовища Амісса та Стюарта

Матеріал у транспортному середовищі – доставляють протягом 48 годин

Мікроскопія досліджуваного матеріалу = **обов'язковий етап**

Матеріал, взятий одним з стерильних ватних тампонів,

1. розподіляють по стерильному предметному склу,
2. забарвлюють по Граму ,
3. осліджують під мікроскопом.

При виявленні мікроорганізмів відзначають

- морфологічну характеристику (палички, коки та ін.),
- Тінкторіальні властивості (грампозитивні і грамнегативні)
- ступінь обсіменіння
- Наявність лейкоцитів

Відповідно до результатів мікроскопії визначають хід подальшого бактеріологічного дослідження.

Посів досліджуваного матеріалу

Поживні середовища:

5% кров'яний агар,

цукровий бульйон,

«Середовище для контролю стерильності».

Матеріал, відібраний другим ватяним стерильним тампоном з тієї ж ділянки рани, засівають на чашку з

1. 5% кров'яним агаром,
2. «середовище для контролю стерильності»
3. цукровий бульйон.

Тверді шматочки тканин, гомогенати засівають на

1. «середовище для контролю стерильності»
2. цукровий бульйон.

Посів досліджуваного матеріалу

Метод засіву = «тампон-петля».

1. Тампоном проводиться доріжка по діаметру чашки,
2. іншою стороною тампона в зворотному напрямку засівається ще одна доріжка, паралельна першій.
3. Матеріал розтирають по чашці петлею штрихами, перпендикулярними доріжкам.

Такий посів дозволяє виділити різні мікроорганізми у вигляді окремих колонієутворюючих одиниць (КУО) навіть з мікробної асоціації.

Засіяні рідкі і щільні поживні середовища **інкубують** в термостаті при 37°C протягом 18-24 годин.

При виявленні росту **проводять відсів окремих колоній** на елективні середовища для ідентифікації.

Відзначають характер росту мікроорганізмів: **у вигляді монокультури або в асоціації.**

При виявленні асоціації на щільному живильному середовищі відзначають прискорене зростання будь-якого представника асоціації.

При відсутності росту в 1 добу, посіви залишають в термостаті.

Їх переглядають щодня.

При візуальному виявленні зростання, **проводять відповідні відсів.**

Відповідь про відсутність зростання видають через 5 діб інкубування

Бактериологическое исследование гнойного отделяемого

1-й день исследования

Первичная микроскопия обязательна. Исходя из полиэтиологичности гнойно-воспалительных заболеваний с учетом результатов первичной микроскопии гноя, исследуемый материал засевают на соответствующие среды:

- сахарный, кровяной агар — для стрептококков;
- желточно-солевой агар — для стафилококков;
- среда Эндо и МПА — для бактерий сем. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*;
- сывороточный агар с ристомицином — для менингококков;
- среда Китта–Тароци — для анаэробов;
- среда Сабуро — для грибов.

2-й день исследования:

- просмотр посевов; учет роста колоний на питательных средах, изучение культуральных свойств;
- изучение морфолого-тинкториальных свойств возбудителя;
- пересев на скошенный агар для накопления.

3-й день исследования:

- просмотр посева на скошенном агаре;
- подтверждение чистоты накопленной культуры;
- постановка биохимических тестов;
- посев на среду Пешкова для определения подвижности;
- определение оксидазной активности;
- постановка OF-теста (от англ. *oxidation-fermentation test* — тест окисления-ферментации);
- тест на чувствительность к антибиотикам;
- пересев на скошенный агар для сохранения.

4-й день исследования:

- учет результатов биохимических тестов;
- окончательная идентификация, внутривидовая дифференциация.

Для доказательства этиологической роли возбудителя при бактериологическом исследовании необходимо подтверждение критериев этиологической значимости.

Методи виділення анаеробних бактерій

Анаероби культивують на **спеціальних поживних середовищах**, які задовольняють їх складним харчовим потребам, містять селективні добавки, що забезпечують вибіркоче виділення облигатно анаеробних мікроорганізмів.

Селективні добавки = антибіотики аміноглікозидного ряду (до них анаероби природньо стійкі)

- анаеробний кров'яний агар з гентаміцином;
- анаеробний кров'яний агар з неоміцином і налідиксовою кислотою
- анаеробний кров'яний агар з канаміцином і ванкоміцином
- фруктозо-циклосерин-цефоксітинове середовище (для *Clostridium difficile*)
- тіогліколеве напіврідке середовище
- Середовище Кітт-Тароцці
- середовище Вільсона-Блера (залізо-сульфітний агар).

Методи виділення анаеробних бактерій

Посіви облигатно анаеробних мікроорганізмів культивують в атмосфері з вмістом кисню не більше 0,1%.

Безкисневі умови для культивування анаеробів створюють з використанням анаеробних камер, анаеростатів і анаеробних пакетів.



Оцінка результатів досліджень

повинна бути комплексною, враховувати клінічну картину, результати мікроскопії та культуральних досліджень

При виділенні УПМ слід **виключити можливу контамінацію** біоматеріалу мікроорганізмами з поверхні шкіри, особливо при використанні тампонів.

При виділенні змішаних культур **перевагу слід віддавати** мікроорганізмам, виділеним в **більшій концентрації**, що мають **більш високу вірулентність та патогенний потенціал**

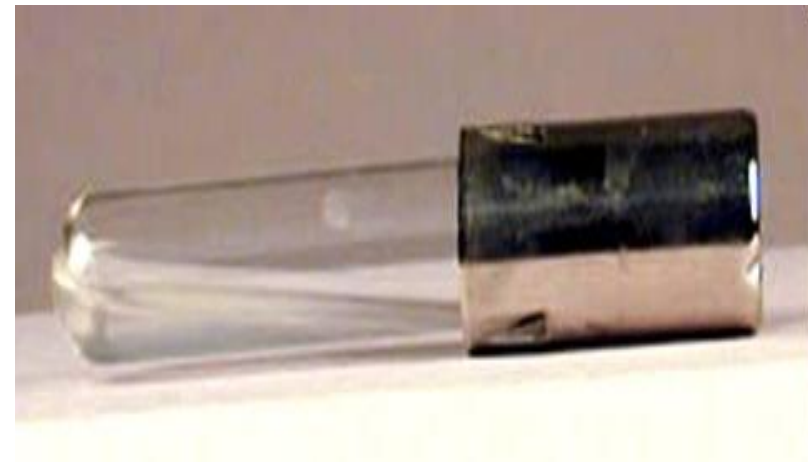
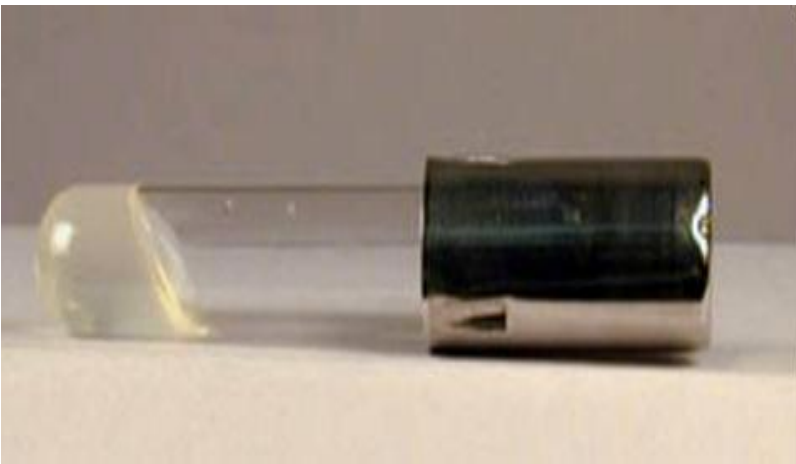
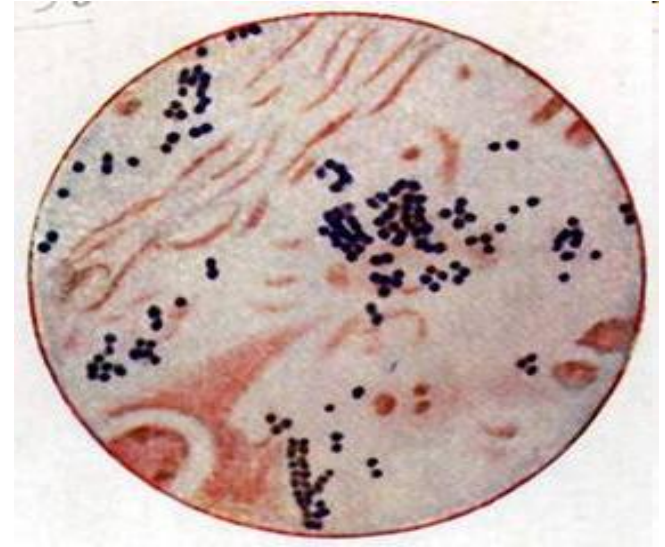
ПРИЧИНИ ВІДСУТНОСТІ РОСТУ БАКТЕРІЙ

- Наявність у біоматеріалі місцевих та системних антибіотиків у високій концентрації
- Порушення режимів зберігання та транспортування проб
- Домінування анаеробної мікрофлори
- Методичні лабораторні помилки
- Невірний вибір антибіотиків для лікування

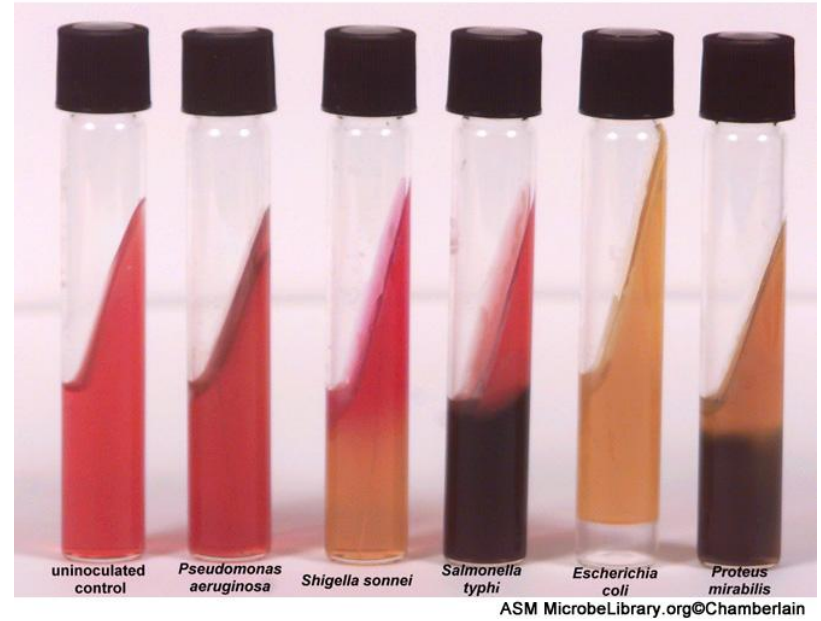
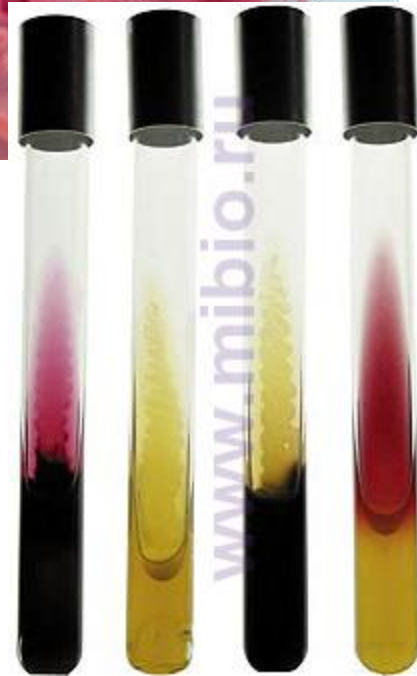
У висновку лабораторії вказують:

1. які види мікроорганізмів були виділені
2. в якій кількості (слабкий, помірний або рясний ріст на щільному поживному середовищі).
3. При виділенні асоціації мікроорганізмів перераховують всі види мікроорганізмів, що входять до асоціації, і відзначають, чи є прискорене зростання будь-якого з представників асоціації.
4. Чутливість до антибіотиків **найважливіших патогенів**, що були ізольовані

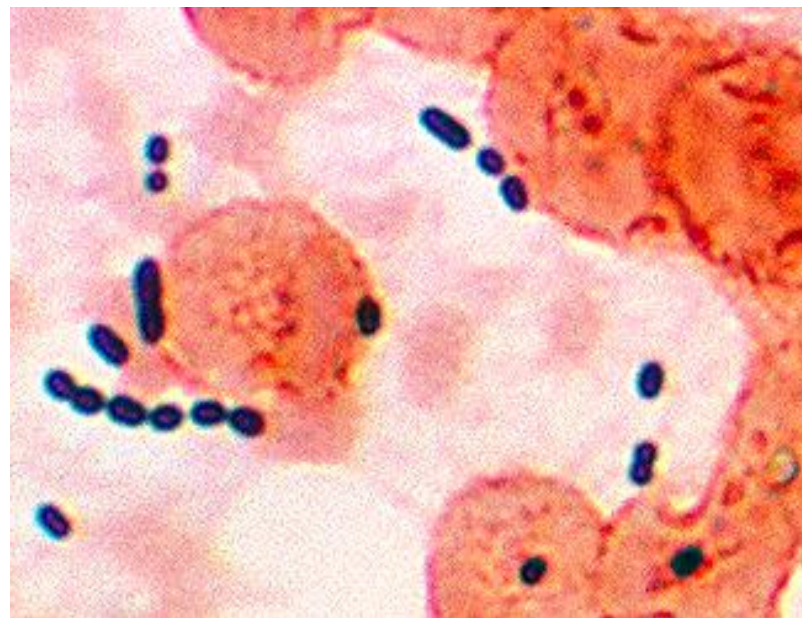
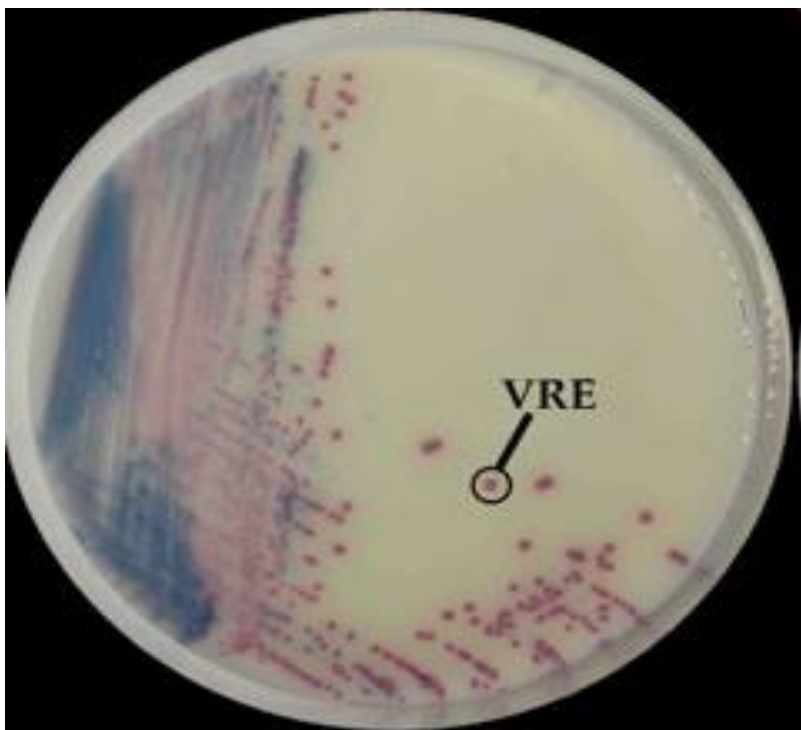
Золотистий стафілокок



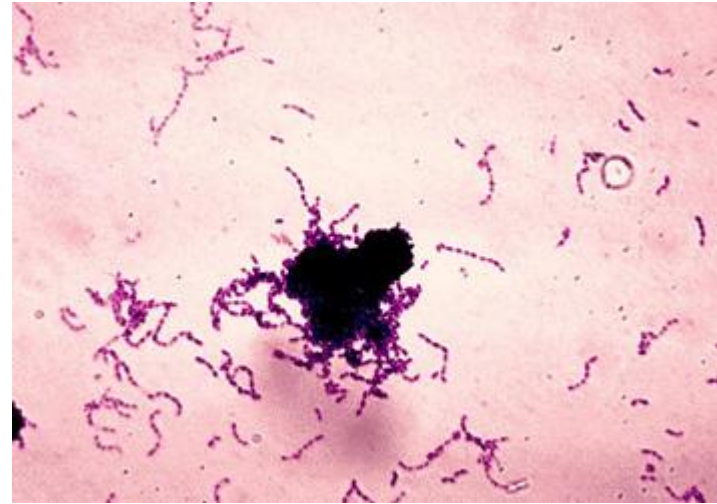
E. coli



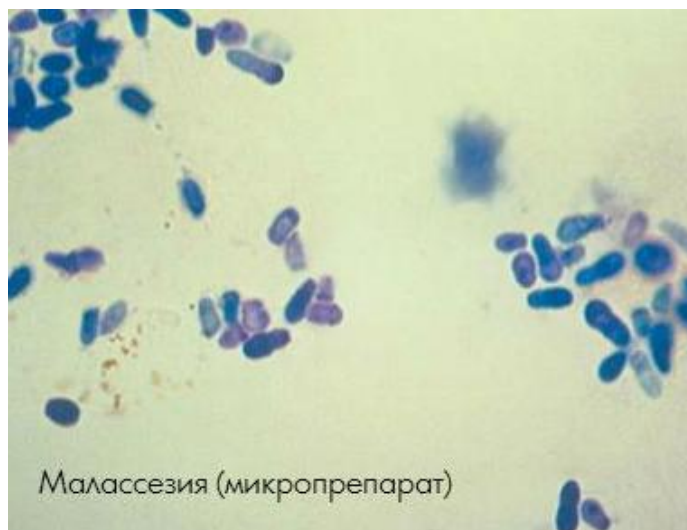
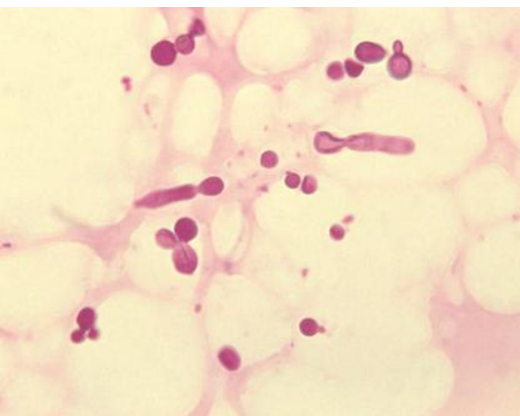
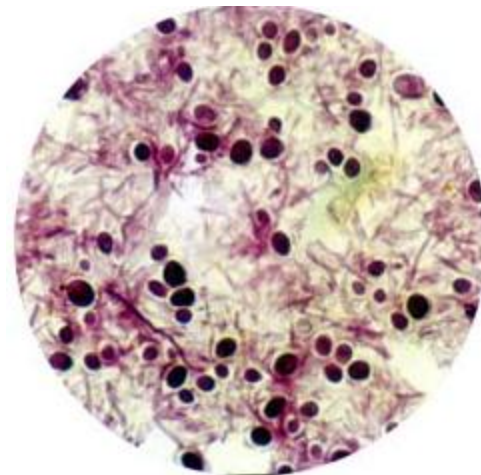
Ентерококи



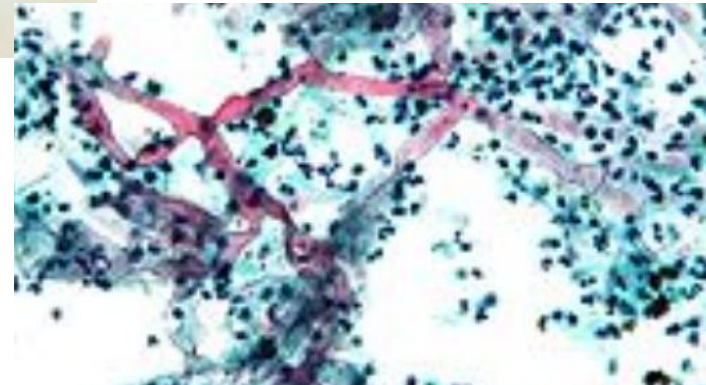
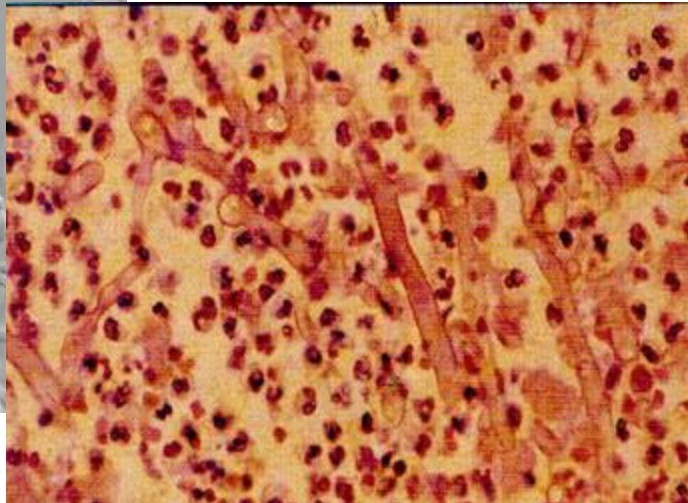
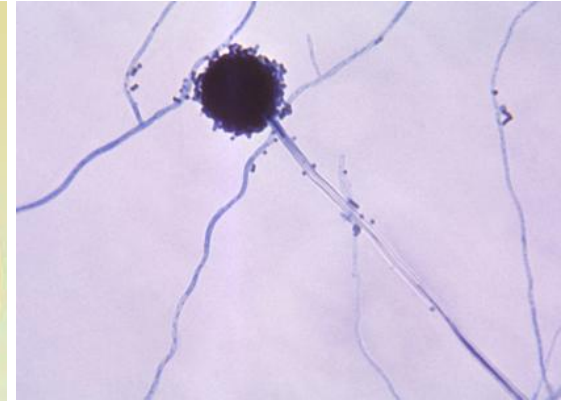
Гемолітичний стрептокок



Дріжджоподібні гриби



Плісняві міцеліальні гриби



Висновки

- 1. Етіологічна структура ранових інфекцій, гнійно-запальних захворювань шкіри, підшкірної жирової клітковини і інших тканин дуже різноманітна - стафілококи, стрептококи, ентеробактерії, клебсієли, ентерококи, кандіди, бактероїди, псевдомонади тощо**
- 2. Мікробіологічні дослідження є провідними при визначенні збудника, дослідженні його чутливості до антибактеріальних препаратів**
- 3. Для ефективного лікування необхідна тісна кооперація лікарів різних спеціальностей, що має забезпечити проведення комплексної оцінки результатів мікробіологічних досліджень**

Дякую за увагу!

