

# KLİMUD REHBERLERİ

Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları için



## DERİ, DERİ EKLERİ YUMUŞAK DOKU ve GÖZ ÖRNEKLERİNİN LABORATUVAR İNCELEMESİ REHBERİ

2. Baskı, 2024 / ANKARA  
KLİMUD-DYD.REH.06/24.Ver02

Bu Rehber Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD) tarafından hazırlanmış olup Rehberin her türlü yayın, basım ve dağıtım hakkı KLİMUD'a aittir. KLİMUD'un yazılı izni olmadan Rehberin tümü ya da bir bölümü herhangi bir ortamda yayınlanamaz ve/veya çoğaltılamaz. Ancak kaynak gösterilerek kısa alıntılar yapılabilir. Rehber ilgili kişi ve kurum/kuruluş için hazırlanmış olup ücretsizdir ve para ile satılamaz.

Haziran 2024, Ankara

ISBN: 978-605-84108-0-0

KLİMUD Kaynak No: 8

Düzeltilmiş 2. Baskı

KLİMUD-DYD.REH.06/24.Ver02

Kapak deseni: *Staphylococcus aureus*\*

\* Kaynak: Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 4 August 2009; Under a very high magnification of 20,000x, this scanning electron micrograph (SEM) shows a strain of *Staphylococcus aureus* bacteria taken from a vancomycin intermediate resistant culture. CDC/ Matthew J. Arduino, DRPH. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus\\_aureus\\_VISA\\_2.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus_aureus_VISA_2.jpg) (public domain)



REHBER  
KOORDİNASYON  
KURULU  
(RKK)

Efsun AKBAŞ (Başkan)  
Duygu FINDIK  
Aydan ÖZKÜTÜK  
Serap SÜZÜK YILDIZ  
Ayşın ZEYTİNOĞLU

DERİ, DERİ EKLERİ, YUMUŞAK DOKU  
ve GÖZ ÖRNEKLERİNİN  
LABORATUVAR İNCELEMESİ REHBERİ  
ÇALIŞMA GRUBU\*

**Başkan**

Cüneyt ÖZAKIN

**Yazıcı Üyeler**

Alper AKÇALI  
Burcu DALYAN ÇİLO  
Dilara ÖĞÜNÇ  
Yasemin ÖZ  
Nurver ÜLGER

**Uygulayıcı Üyeler**

Pınar ŞAMLIOĞLU  
Sezcan SAĞLAM

**Klinisyen Üyeler**

Oral ÖNCÜL

KLİMUD REHBERLERİ  
GÖZDEN GEÇİRME KURULU (GGK)

Gülay AKARSU	Nedret KOÇ
Şöhret AYDEMİR	Dilek METİN
Neriman AYDIN	Özlem MİMAN
Gülendam BOZDAYI	Betigül ÖNGEN
Güliden ÇELİK	Tuncer ÖZEKİNCİ
Feriha ÇİLLİ	Arzu SAYINER
Melek DEMİR	Cemile SÖNMEZ
Neşe GÖL	Süheyla SÜRÜCÜOĞLU
Demet HACİŞEYİTOĞLU	Burçin ŞENER
Süleyha HİLMİOĞLU POLAT	Nilay UÇARMAN

(\*) Soyadına göre alfabetik dizin

## Teşekkür...

*KLİMUD Rehberleri doğası gereği güncellemeler yapılan dokümanlardır ve her güncelleme önceki baskılara katkıları geliştirmekte, genişletmektedir. İlk baskıların yayımlanmasından bu yana alanımızdan birçok bilim insanı bu çok önemli çalışmaya katkıda bulunmuştur.*

*Rehber Koordinasyon Kurulu olarak, aşağıda adı geçen değerli uzmanlara, 'Deri, Deri Ekleri, Yumuşak Doku ve Göz Örnekleri Laboratuvar İnceleme Rehberi'nin önceki baskılarının koordinasyonunda, okunmasında ve değerlendirilmesinde verdikleri katkılardan dolayı şükranlarımızı sunuyoruz.*

*Hakan ABACIOĞLU, Ali ADİLOĞLU, Mehmet BAYSALLAR, Selda ERENŞOY,  
Berrin ESEN, Zeynep Ceren KARAHAN, Pınar ZARAKOLU KÖŞKER, Belkis LEVENT*

## İçindekiler

Bu Rehberi nasıl kullanacaksınız? .....	vii
Kısaltmalar ve tanımlar .....	viii
Anahtar kelimeler / Key words.....	viii
Biyogüvenlik uygulamaları.....	ix
<b>BÖLÜM 1- DERİ, DERİ EKLERİ ve YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONLARINDA OLASI ETKENLER .....</b>	<b>1</b>
Giriş.....	1
Olası etkenler, klinik örnekler .....	2
Kaynaklar .....	4
<b>BÖLÜM 2 - SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİ: YARA ve YANIK YARA ENFEKSİYONLARININ İNCELENMESİ .....</b>	<b>5</b>
Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri.....	5
Örneklerin işlenmesi.....	5
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması .....	7
Yanık yara enfeksiyonlarının incelenmesi .....	9
Kaynaklar .....	10
<b>BÖLÜM 3 - APSE ve ASPİRAT ÖRNEKLERİ .....</b>	<b>11</b>
Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri .....	11
Örneklerin işlenmesi ve iş akışı .....	13
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması .....	14
Kaynaklar .....	14
<b>BÖLÜM 4 - DOKU ve BİYOPSİ ÖRNEKLERİ .....</b>	<b>15</b>
Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri .....	15
Örneklerin işlenmesi ve iş akışı .....	16
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması .....	16
Kaynaklar .....	17
<b>BÖLÜM 5 - DERMATOMİKOZLARDA TANI .....</b>	<b>19</b>
Dermatomikozlarda olası etkenler .....	19
Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri .....	20
Örneklerin işlenmesi ve iş akışı .....	22
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması .....	24
Kaynaklar .....	25
<b>BÖLÜM 6 - DERİ ŞARBONU ve LEPRADA LABORATUVAR İNCELEMELERİ .....</b>	<b>27</b>
Şarbon .....	27
Lepra.....	28
Kaynaklar .....	29

<b>BÖLÜM 7 - ISIRIK YARALARI.....</b>	<b>31</b>
Isırık yaralarının özellikleri .....	31
Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri.....	31
Örneklerin işlenmesi ve iş akışı .....	32
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması .....	34
Kaynaklar.....	35
<b>BÖLÜM 8 - DİYABETİK AYAK ve DEKÜBİTÜS ÜLSERLERİ .....</b>	<b>37</b>
Diyabetik ayak.....	37
Dekübitüs ülserleri .....	38
Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri.....	39
Örneklerin işlenmesi ve iş akışı .....	40
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması .....	41
Kaynaklar .....	42
<b>BÖLÜM 9 - GÖZ ÖRNEKLERİ .....</b>	<b>43</b>
Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri.....	43
Örneklerin işlenmesi ve iş akışı .....	45
Sonuçların raporlanması .....	46
Kaynaklar .....	47

## TABLULAR

Tablo 1 Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında tanıda kullanılan örnekler ve olası etkenler .....	2
Tablo 2 Yara sürüntü örneklerinin alınması, taşınması, saklama koşulları, kabul/ret ölçütleri.....	6
Tablo 3 Yara sürüntü örneklerinin kültür için işlenmesi, inkübasyon koşulları ve değerlendirme .....	6
Tablo 4 Q skorlama tablosu (Matkoski C, et al., 2006) .....	8
Tablo 5 Vücudun farklı bölgelerinde gelişen enfeksiyonlara göre apse örneklerinde olası etkenler .....	11
Tablo 6 Apsel/aspirat kültürleri için kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve değerlendirme .....	13
Tablo 7 Dermatomikozlarda tanı amacıyla alınan örneklerde olası etkenler .....	19
Tablo 8 Dermatomikoz tanısı için örneklerin alınması, taşınması, kabul / ret ölçütleri.....	21
Tablo 9 Dermatomikoz tanısında alınan örneklerin işlenmesi.....	23
Tablo 10 Deri şarbonunun tanısı için alınacak örnekler, alınması, taşınması, saklama koşulları .....	27
Tablo 11 Lepra şüpheli örneklerin boyalı yayma preparatının mikroskopik incelemesinde 100x büyütmede bakteriyolojik indeks (BI) .....	29
Tablo 12 Bazı hayvan veya insan ısırıkları sonrası gelişen enfeksiyonlarda olası etkenler.....	32
Tablo 13 Isırık yaralarından alınan örneklerin ekildikleri besiyerleri, kültür koşulları ve değerlendirme .....	33
Tablo 14 Anaerob Gram-negatif bakterilerin ayırt edici özellikleri .....	33
Tablo 15 Diyabetli bir kişide ayak enfeksiyonunun varlığını ve ciddiyetini tanımlayan sınıflandırma sistemi ['IWGDF/IDSA Guidelines, 2023'ten uyarlanmıştır.] .....	37
Tablo 16 Bası yaralarının klinik ciddiyetini tanımlayan evrelendirme sistemi ['NPIAP Fact Sheet, 2016'dan uyarlanmıştır.].....	39
Tablo 17 Diyabetik ayak ve dekübitüs ülserlerinden alınan örneklerin işlenmesi.....	40
Tablo 18 Diyabetik ayakta enfeksiyon tipine göre olası etkenlerin dağılımı* .....	41
Tablo 19 Gözde gelişen enfeksiyonlarda tanı için kullanılan örnekler ve olası etkenler .....	44
Tablo 20 Gözde yüzeysel ve komşu bölgelerin katıldığı enfeksiyonlarda kültür ve izlenmesi .....	45
Tablo 21 Göz içi sıvı ve kornea kazıntı örneklerinin işlenmesi .....	45

## Bu Rehberi nasıl kullanacaksınız?

KLİMUD rehberleri, Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlarımıza klinik örnek alınmasından raporlama aşamasına kadarki tüm süreçlerin yönetilmesinde yardımcı bir kaynak oluşturulması amacıyla hazırlanmıştır.

Bu Rehber tanı amacıyla laboratuvara gönderilen 'deri, deri ekleri, yumuşak doku ve göz örnekleri' incelemeleri için Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarlarının günlük uygulamalarında kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Rehberin; örneklerin alınması, laboratuvara gönderilmesi, laboratuvarda işlenmesi, kültürlerin değerlendirilmesi, sonuçların yorumlanması ve raporlanması konularında Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlarına yol gösterici olması hedeflenmiştir. Metinler okuyucunun kolayca bilgiye ulaşmasını amaçlayan tablolar ve algoritmalar ile desteklenmiştir. Rehberin ayrıca, uzmanın, doğru ve zamanında sonuç verebilmesine olduğu kadar sağlık hizmeti kalitesini artıracak ve maliyet etkin uygulamaları gözetecek bir yaklaşım geliştirmesine de yardımcı olacağı umut edilmektedir.

Bölümler içerisinde yer alan "**bilgi notları**" konu ile ilgili olarak bilinmesi gereken önemli noktalara, "**uyarı**" kutucukları ise özellikle uygulamada dikkatli olunması gereken süreçlere vurgu yapmakta olup, bu amaçla tüm rehberde aşağıda yer alan simgeler kullanılmıştır.

Rehberde "Biyogüvenlik Uygulamaları"na ise kısaca –'deri, deri ekleri, yumuşak doku ve göz örnekleri' ile çalışan bir laboratuvar için öncelikli güvenlik önlemlerini hatırlatıcı düzeyde– yer verilmiştir. Laboratuvarlar yürüttükleri çalışmaların tamamını kapsayacak şekilde *risk değerlendirmesi temelinde* uygun biyogüvenlik önlemlerini almak üzere daha fazla bilgiye "UMS Laboratuvar Güvenliği Rehberi" ve konuya özel diğer kaynaklardan ayrıca ulaşmalıdır.



Bilgi simgesi

İlgili örnek ve/veya enfeksiyon hakkında mutlaka bilinmesi gereken bilgi



Uyarı-dikkat çekme simgesi

Önemli mesajlar/uygulamalar



Raporlama simgesi

İlgili örneğin raporlanmasında kullanılan farklı şablonlar

## Kısaltmalar ve tanımlar

<b>ADT</b>	antimikrobiyal duyarlılık testi	<b>KVLB</b>	kanamycin-vancomycin laked blood (agar)
<b>ARB</b>	aside dirençli basil/boyama (aside-rezistan basil/boyama) (acid-fast stain)	<b>MAC</b>	MacConkey agar
<b>ASM</b>	American Society for Microbiology (Amerikan Mikrobiyoloji Derneği)	<b>TCBS</b>	thiosulfate sitrate bile-salts sucrose
<b>BCYE</b>	buffered charcoal yeast extract agar (tamponlanmış kömürlü maya özütü agar)	<b>VDRL</b>	venereal disease research laboratory (test)
<b>BGD</b>	biyogüvenlik düzeyi	<b>KKA</b>	koyun kanlı agar (%5 koyun kanı içeren)
<b>BGK</b>	biyogüvenlik kabini	<b>KKD</b>	kişisel koruyucu donanım
<b>BHI</b>	brain heart infusion (agar)	<b>KNS</b>	koagülaz negatif stafilokok
<b>bkz.</b>	bakınız	<b>KOH</b>	potasyum hidroksit
<b>BOS</b>	beyin omurilik sıvısı	<b>NaOH</b>	sodyum hidroksit
<b>CDC</b>	Centers for Disease Control and Prevention (ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri)	<b>OS</b>	oda sıcaklığında
<b>cfu</b>	colony forming unit (koloni oluşturan birim)	<b>örn.</b>	örneğin
<b>CIN</b>	cefsulodin-igrasan-novobiocin	<b>PCR</b>	polymerase chain reaction (polimeraz zincir reaksiyonu)
<b>CLED</b>	cystine-lactose-electrolyte-deficient (agar)	<b>PDA</b>	patates dekstroza agar
<b>CMV</b>	cytomegalovirus	<b>PNL</b>	polimorfonükleer lökosit
<b>CTBA</b>	cystine tellurite blood agar	<b>SDA</b>	Sabouraud dekstroza agar
<b>EMB</b>	eosine-methylene blue (agar)	<b>SF</b>	serum fizyolojik
<b>HACEK</b>	<i>Haemophilus, Actinobacillus, Capnocytophaga, Eikenella, Kingella</i>	<b>TB</b>	tüberküloz
<b>DAÜ</b>	diabetik ayak ülseri	<b>THIO</b>	tiyoglikolatlı sıvı besiyeri
<b>DFA</b>	direkt floresan antikor	<b>UMS</b>	Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (2014) – Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (şimdiki adı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü) tarafından yayımlanmış olan, bildirimi zorunlu bulaşıcı hastalıkların tanısında standart yöntemleri ve algoritmaları içeren rehber doküman
<b>DMSO</b>	dimetil sülfoksit	<b>VTM</b>	viral taşıma (transport) besiyeri
<b>EZN</b>	Ehrlich-Ziehl-Neelsen (boyama)	<b>VZV</b>	varicella zoster virus
<b>IDSA</b>	Infectious Diseases Society of America (Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği)	<b>v/v</b>	volume/volume (hacim/hacim); 100 mL çözeltide çözünen maddenin hacim (mL) cinsinden miktar
<b>HIV</b>	human immunodeficiency virus	<b>w/v</b>	weight/volume (ağırlık/hacim); 100 mL çözeltide çözünen maddenin gram (gr) cinsinden miktar
<b>HSGM</b>	Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü		
<b>HSV</b>	herpes simplex virus		
<b>IWGDF</b>	International Working Group on the Diabetic foot		

## Anahtar kelimeler / Key words

apse, bakteriyel, bası yarası (dekübitüs ülseri), dermatofitoz, dermatomikoz, diyabetik ayak, göz enfeksiyonu, hayvan ısırığı, ısırık yaraları, insan ısırığı, mikolojik, viral, yanık yarası, yara, yara enfeksiyonu, yumuşak doku enfeksiyonu

abscess, animal bite, bacterial, bite wounds, burn wound, decubitus ulcers, dermatophytosis, dermatomycosis, diabetic foot, eye infection, fungal, human bite, soft tissue infection, wound, wound infection, viral



## Biyogüvenlik uygulamaları

Tanı amaçlı incelemeler için deri, deri ekleri, yumuşak doku ve göz örnekleri ile çalışırken laboratuvar personelinin karşı karşıya kalabileceği en ciddi risk kesici-delici (aspirat materyalini içeren enjektör iğnesi vb.den) yaralanması kaynaklı enfeksiyon riskidir. Aseptik teknik kullanılmalı, irin aspiratı içeren malzeme ile kazara yaralanmalardan kaçınılmalıdır. Laboratuvar şartları *asgari biyogüvenlik düzeyi 2* (BGD2) gereklerini karşılıyor olmalı, eldiven ve bedeni tam kapatan önlük -ve gerekli durumlarda diğer uygun KKD- giyilmeli, evrensel önlemler alınmalıdır.

Mikroaerosol oluşturma potansiyeli ya da sıçrama/saçılma riski olan her türlü prosedür (örn., örnekleri vorteksleme, örnek kapaklarının açılması, santrifüj tüplerinin açılması, sonikasyon, yaymaların hazırlanması, katalaz testi, besiyerlerine ekim,vb.) **biyogüvenlik kabini** (BGK) içinde yürütülmelidir. Eğer **santrifüj** edilecekse bütün örnekler için kapaklı santrifüj rotorları veya örnek kapları kullanılmalı; rotorlar ve kaplar *ideal olarak* bir BGK içinde yüklenmeli ve boşaltılmalıdır. BGK dışındaki prosedürler kazara örnek saçılmasına maruz kalma olasılığını en aza indirecek şekilde gerçekleştirilmelidir. Örnekler işlendikten sonra çalışma yüzeyleri ve ekipman her zaman uygun bir dezenfektan ile dekontamine edilmelidir.

Mikroskopi için kullanılmış lamlar, çeşitli aktarma amaçları için kullanılmış pipet uçları ile kültürler için kullanılmış tek kullanımlık özeler **kesici-delici atık** kabul edilirler ve **kesici-delici atık kutusuna** atılırlar. Bu kutular delinmeye dayanıklı sert çeperli, kapağı hiçbir şekilde açılmaz, boşaltılamaz ve tekrar kullanılamaz özellikte (tek kullanımlık) olmalıdır. Gerçekte pipet uçları ve tek kullanımlık özeler insan cildi için kesici-delici nitelikte olmamakla birlikte, diğer biyolojik kirlilerin bulunduğu torbalara atılmaları halinde torbayı delerek sızıntıya neden olabilirler ve ciddi enfeksiyöz risk doğurabilirler; bu nedenle kesici-delici atık kabına atılmalıdırlar.

Laboratuvarlar, BGD2 laboratuvar şartlarını sağlamak, çalışmalarının bütünü için risk değerlendirmesi temelinde uygun önlemleri almak ve her yönü ile güvenli laboratuvar uygulamalarını hayata geçirebilmek için ayrıca "UMS Ulusal Laboratuvar Güvenliği Rehberi (2021)"ne başvurmalıdır.

*Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır.*

# BÖLÜM 1

## DERİ, DERİ EKLERİ ve YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONLARINDA OLASI ETKENLER

### Giriş

**Deri**, insan için sadece bir örtü değil, değişik ve çok çeşitli fonksiyonları olan bir organdır. Estetik görevinin yanında, altında yer alan doku ve organları dış ortam koşullarından koruyarak homeostazisi sağlamakla da görevli bir yapıdır. Deri embriyolojik olarak ektoderm, mezoderm ve nöroektodermden köken alan hücresel yapılar içerir. Organlarımız içinde hem ağırlık, hem de hacim bakımından en büyüğüdür; yetişkin bir kişide ağırlığı 15-20 kg'a kadar ulaşırken, yüzey alanı 1.80-2.00 m<sup>2</sup> arasında değişmektedir. Deri her yerde aynı kalınlıkta değildir. Genel olarak kalınlığı 0.5 ila 2 mm arasında değişiklik gösterir. El içi ve ayak tabanında bu kalınlık 4-6 mm'ye kadar çıkarken, göz kapaklarında 0.1 mm'ye kadar incelmektedir. Deri histolojik olarak epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç tabakadan oluşur; **deri ekleri** olarak isimlendirilen keratinize özellikteki kıllar ve tırnaklar ile salgısal özellikteki ter ve yağ bezleri dermis tabakasından kaynaklanmaktadır.

**Yumuşak doku**, vücudumuzdaki organ ve diğer yapıları çevreleyen, bağlayan ve destek olan kemik dışı yapılara denir. Yumuşak doku; tendon, fasiya, fibröz doku, yağ, sinovyal, kas, sinir ve kan damarlarından oluşur. Kısaca deri ve iskelet dışındaki mezenşimal dokulardır.

Deri, deri ekleri ve yumuşak doku enfeksiyonları genellikle travma, inflamasyon, aşırı nem kaynaklı maserasyon, zayıf kan perfüzyonu veya *stratum korneum*u bozan diğer nedenler sonucu cildin koruyucu mekanizmaları başarısız kaldığında ortaya çıkar. Böylece ciltte meydana gelen herhangi bir zedelenme, çeşitli enfeksiyonlar üretebilen sayısız eksojen ve endojen mikrobiyal ajan için bir giriş noktası sağlar.

Deri, deri ekleri ve yumuşak doku enfeksiyonları başlıca primer piyodermalar, derinin altında yatan koşullarıyla ilişkili enfeksiyonlar ve nekrotizan enfeksiyonlar olarak sınıflandırılır. Daha ayrıntılı belirtmek gerekirse bu enfeksiyonlar impetigo, fronkültit, fronkül, karbonkül, ektima, erizipel, selülit, apse, miyozitis, cerrahi yara enfeksiyonları, özellikli konaklar olan yanık hastalarının yanık yara enfeksiyonları ve diyabet hastalarının diyabetik ayak enfeksiyonları, şarbon, lepra ve dermatomikozlar şeklinde sayılabilir.

Rehberde, tanı için örneklerin seçilmesi, alınma teknikleri, laboratuvara kabul ve olası etkenlere göre analiz edilmeleri, sonuçların değerlendirilerek raporlanması adımları Bölüm-2'den Bölüm-8'e kadar olan kısımda sunulmaktadır. Bu rehberde etken mikroorganizmaları tanımlama süreçleri yer almamaktadır. Mikroorganizmaların tanımlanmasına yönelik standart uygulama prosedürleri ve temel laboratuvar teknikleri için okuyucunun Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS2014) rehberine başvurması önerilir (bkz. Bölüm 1, Kaynaklar).

## Olası etkenler, klinik örnekler

Kutanöz enfeksiyonların morfolojik ve klinik özelliklerine göre sınıflandırılması, en olası etkenlere ilişkin ilk ipuçlarının sağlanmasında çok yardımcı olabilir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında olası etkenler ve tanı için uygun klinik örnekler **Tablo 1**'de sunulmaktadır.

Derinin tipik primer enfeksiyonları selülit, ektima, impetigo, folikülit, fronküloz ve erizipellerdir ve genellikle dar bir piyojenik bakteri spektrumundan -*S. aureus* ve/veya *S. pyogenes*- kaynaklanırlar. Bu olgular genellikle ampirik tedavi edilirler; örnekler çoğu kez tedaviye yanıt yoksa veya altta yatan hastalığı olanlarda alınır. Bir diğer ifadeyle sık rastlanan, poliklinik şartlarında tedavi edilebilen komplike olmayan deri enfeksiyonu formlarında kültürler endike değildir. Öte yandan hastanede yatan hastaların selülit tedavisinde de kültürlerin yararlı olup olmadığı belirsizdir ve bu olgularda kan kültürlerinin duyarlılığı da düşüktür. Kültürler daha ziyade tedavinin başarısız olduğu vakalarda ve derin doku tutulumu riski nedeniyle cerrahi girişim ve drenaj gerektiren hastalarda endikedir.

Klinik duruma karşılık gelen test sonuçlarının elde edilmesinde önemli bir faktör hastadan -klinik durumu iyi temsil eden- uygun örneklerin elde edilmesidir. Böyle örneklerin temini için *genelde* önemli noktaları belirtmek gerekirse:

- Alınan örnek tek başına "yara" şeklinde etiketlenmemeli; etikette vücudun bölgesi ve yaranın türü hakkında bilgi de yer almalıdır... *örn.*, "insan ısırık yarası, parmak eklemi".
- Lezyonun ilerleyen kenarından alınan biyopsi örneği tercih edilmelidir. Tek başına püvy veya üstünlük bir yüzey sürüntüsü yetersiz kalır ve genellikle hastalık sürecini temsil etmez.

**Tablo 1.** Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında tanıda kullanılan örnekler ve olası etkenler.

Hastalık/ Klinik durum*	Örnek türü	Olası etkenler		
		Bakteri	Virüs	Mantar
İmpetigo	Aspirat/doku/biyopsi**	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , Grup C ve G streptokok (nadir), Grup B streptokok (yenidoğanda)		
Fronkülit	Aspirat/doku/biyopsi**	<i>S. aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> ve diğer Gram-negatif bakteriler	HSV	<i>Candida</i> spp, <i>Malassezia</i> spp
Ektima, fronkül ve karbonkül	Aspirat/doku/biyopsi**	<i>S. pyogenes</i> , <i>S. aureus</i>		
Erizipel	Aspirat/doku/biyopsi**	<i>S. pyogenes</i> , Grup C ve G streptokoklar (nadir), Grup B streptokok (yenidoğanda, nadir), <i>S. aureus</i> (çok nadir)		
Selülit	Aspirat/doku/biyopsi**	<i>S. pyogenes</i> , <i>S. aureus</i> , Grup C,G,B streptokoklar		
Eritrazma	Lezyon kazıntı örneği	<i>Corynebacterium minutissimum</i>		
Apse	Aspirat/doku	<i>S. aureus</i> , diğer aerop ve anaerop bakteriler, Aerobik aktinomiçesler		Maya mantarları ( <i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> ), Küf mantarları
Miyozitis	Doku/biyopsi/aspirat	<i>S. aureus</i> , Grup A streptokoklar, nadiren Grup B, C, G streptokoklar, <i>S. pneumoniae</i> , Gram-negatif basiller, anaerop bakteriler ( <i>Fusobacterium necrophorum</i> , <i>Clostridium</i> spp), nadiren <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>M. avium-intracellulare</i> , <i>M. haemophilum</i>		Nadiren <i>Candida</i> spp, <i>Cryptococcus</i> <i>neoformans</i>

Hastalık/ Klinik durum*	Örnek türü	Olası etkenler		
		Bakteri	Virüs	Mantar
Şarbon	Sürüntü/ biyopsi/ aspirat/kan kültürü <sup>#,</sup>	<i>Bacillus anthracis</i>		
Lepra	Deri biyopsi (lezyon kenarı), nazal sürüntü	<i>Mycobacterium leprae</i>		
Deri tüberkülozları	Derideki ülserin sağlam doku ile sınırından alınan biyopsi örneği	<i>Mycobacterium marinum</i> , <i>M. ulcerans</i> , <i>M. haemophilum</i>		
Cerrahi yara enfeksiyonları	Doku/biyopsi/ aspirat/kan kültürü	<i>S. aureus</i> , KNS, Grup A,B,C,G streptokoklar, diğer streptokoklar, enterokoklar, <i>Acinetobacter</i> spp, <i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterobacteriales</i> , florada ve çevrede bulunan aerop-anaerop bakteriler, nadiren <i>Legionella pneumophila</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Mycobacterium</i> spp (hızlı üreyenler)		<i>Candida</i> spp, diğer mayalar
Yanık yara enfeksiyonları	Doku/biyopsi/ aspirat/kan kültürü <sup>€</sup>	<i>S.aureus</i> , koagülaz negatif stafilocoklar, <i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> spp, <i>Enterococcus</i> spp, <i>Bacteroides</i> spp ve diğer anaeroplara, <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Proteus</i> spp, <i>Aeromonas hydrophila</i>	HSV CMV VZV	<i>Candida</i> spp, diğer mayalar, <i>Aspergillus</i> spp, <i>Fusarium</i> spp, <i>Alternaria</i> spp, <i>Zygomycetes</i> , <i>Mucorales</i> cinsi küfler
Diyabetik ayak enfeksiyonları	Debridman sonrası ülser tabanından kazıntı veya doku-kemik biyopsi örneği veya aspirat	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Proteus</i> spp, <i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> spp, <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Fingoldia magna</i>		
Dekübitüs yara enfeksiyonları	Debridman sonrası ülser tabanından kazıntı veya doku biyopsi örneği veya aspirat örneği	<i>S. aureus</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , Grup D streptokoklar, <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus</i> spp, <i>Pseudomonas</i> spp, <i>Corynebacterium</i> spp, <i>Bacteroides</i> spp		<i>Candida</i> spp, diğer mayalar
Miçetom	Doku/aspirat/biyopsi	<i>Actinobaculum</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Pseudramibacter</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Mogibacterium</i> <sup>§</sup> <i>M. leprae</i> , <i>Nocardia asteroides</i> , <i>Nocardia brasiliensis</i> , diğer <i>Nocardia</i> türleri, <i>Nocardiosis dasonvillei</i> , <i>Streptomyces</i> spp		<i>Actinomadura</i> spp, <i>Madurella</i> spp, <i>Pseudoallescheria boydii</i> , diğer mantarlar
Hayvan ısırıkları	Doku/biyopsi/aspirat	<i>Actinobacillus</i> spp, <i>Capnocytophaga</i> spp, <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> , <i>Pasteurella</i> spp, <i>Streptobacillus</i> spp, <i>Mycobacterium fortuitum</i> , <i>M. kansasii</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>Bergeyella zoohelcum</i> , <i>Propionibacterium</i> spp, <i>Filifactor</i> spp, <i>Moraxella</i> spp, <i>Neisseria</i> spp, <i>Kingella</i> spp, <i>P. fluorescens</i> , <i>Halomonas venusta</i> , <i>Peptococcus</i> spp, streptokoklar, stafilocoklar CDC Group EF-4, CDC NO-1 ve anaerop bakteriler		
İnsan ısırıkları	Doku/biyopsi/aspirat	Viridans streptokoklar, stafilocoklar, <i>Haemophilus</i> türleri, <i>Eikenella corrodens</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , diğer <i>Fusobacterium</i> spp, <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Prevotella</i> spp, <i>Porphyromonas</i> türleri	HSV Hepatit B, Hepatit C, HIV	

Kısaltmalar - HSV, herpes simplex virus; CMV, cytomegalovirus; VZV, varicella-zoster virus; HIV, human immunodeficiency virus

\*Dermatomikozlara bu tabloda yer verilmemiştir; ilgili etkenler ve klinik örnekler ayrıntılı olarak **Bölüm 5'**te incelenmektedir.

\*\*Olgular genellikle ampirik tedavi edilir; örnekler çoğu kez tedaviye yanıt yoksa veya altta yatan hastalığı olanlardan alınır.

<sup>¥</sup>Vezikülün tepe kısmı steril enjektör iğnesi ile delinir ve gelen sıvıdan 2-3 eküvyon ile örnek alınır. Eskar varsa kenarı kaldırılır ve altında eküvyon döndürülerek vezikül sıvısı toplanır (2-3 eküvyon: Gram boyama, kültür ve yapılabiliyorsa PCR testleri için). Ülser tabanına eküvyon sürülerek de örnek alınabilir. Vezikül ve varsa eskardan biyopsi alınabilir.

<sup>¶</sup>Kan kültürü örneği sistemik enfeksiyon/yayılım şüphesinde alınır.

<sup>€</sup>Yara sürüntü örneği, doku (punch biyopsi), anaerobik bakteriler için doku biyopsi ve aspirat örneği, mantar enfeksiyonlarında doku biyopsi örneği, virüsler için doku biyopsi veya aspirat örneği, bakteri ve mantar enfeksiyonları için kan kültürü.

<sup>§</sup>Etkenlere göre klinik görünüm değişir. A.p.s.e: *Actinobaculum*, *Actinomyces*. Selülit: *Actinomyces*, *Pseudramibacter*.

Nekrotizan yumuşak doku enfeksiyonu: *Actinomyces*, *Eubacterium*, *Mogibacterium*.

## Kaynaklar

1. Garcia LS, Isenberg HD (eds). Clinical Microbiology Procedures Handbook 3<sup>rd</sup> ed. ASM Press, Washington, D.C. 2010.
2. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 Update by the IDSA and the ASM. *Clin Infect Dis* 2018; 67(6): e58–e63. erişim t. 20/01/2024 <https://academic.oup.com/cid/article/67/6/e1/5046039>
3. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934, Aydoğdu Ofset, Ankara, 2014.  
[https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/mikrobiyoloji-referans-laboratuvarlari-ve-biyolojik-urunler-db/Dokumanlar/Rehberler/UMS\\_LabTaniRehberi\\_Cilt\\_1.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/mikrobiyoloji-referans-laboratuvarlari-ve-biyolojik-urunler-db/Dokumanlar/Rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_1.pdf) (Bildirimi zorunlu bakteriyel enfeksiyonların izolasyonu ve tanımlanması) erişim t. 20/01/2024  
[https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/mikrobiyoloji-referans-laboratuvarlari-ve-biyolojik-urunler-db/Dokumanlar/Rehberler/UMS\\_LabTaniRehberi\\_Cilt\\_2.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/mikrobiyoloji-referans-laboratuvarlari-ve-biyolojik-urunler-db/Dokumanlar/Rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_2.pdf) (Temel tanımlama teknikleri, Enfeksiyöz materyal transportu, ADT) erişim t. 20/01/2024  
[https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/mikrobiyoloji-referans-laboratuvarlari-ve-biyolojik-urunler-db/Dokumanlar/Rehberler/UMS\\_LabTaniRehberi\\_Cilt\\_3.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/mikrobiyoloji-referans-laboratuvarlari-ve-biyolojik-urunler-db/Dokumanlar/Rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_3.pdf) (Parazitolojik incelemeler, Viral enfeksiyonların tanısı, Sendromik tanı) erişim t. 20/01/2024

## BÖLÜM 2

# SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİ YARA ve YANIK YARA ENFEKSİYONLARININ İNCELENMESİ

### Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Sürüntü örnekleri en son tercih edilecek örnek türüdür. Bu nedenle sürüntü örneklerinin alınması **klirik olarak enfekte** olan, kronik drenajı olan ancak aspire etmek için yeterli püvy veya sıvı bulunmayan ve iyileşmeyen yaralarla sınırlanmalıdır.

Örneği almadan önce yara debride edilmelidir. Bunun için yara yeri serum fizyolojik (SF) ile temizlenir (her seferinde yeni steril gazlı bezle silinir). Tüm yüzeysel eksuda ve nekrotik materyal uzaklaştırılır. Lezyon kuru ise eküvyon SF ile nemlendirilmelidir. Eküvyon yaranın (püvy veya enfekte doku kanıtı olan alanın) yüzeyinde yaklaşık **beş** kez nazikçe döndürülür.

Klinik olarak enfekte olan her tür **derin yarada** ve **ısırik** enfeksiyonlarında aerobik ve anaerobik kültür birlikte yapılmalıdır; bu amaç için sürüntü örneği alınmamalıdır.

Eküvyon ile alınan örnekler, örneği korumak ve nemli tutmak ve eküvyonun inhibe edici etkilerini nötralize etmek için Stuart veya Amies besiyeri içeren bir transport besiyeri içinde gönderilmelidir. Eküvyon olarak *flocked* eküvyon kullanılması önerilir. Gram boyama, aerop kültür ve mantar kültürü için ayrı eküvyonlar kullanılmalıdır.

Yara sürüntü örneklerinin alınması, taşınması, saklama koşulları ve kabul/ret ölçütleri **Tablo 2'**de özetlenmiştir. Kısaca değinmek gerekirse; mikobakteri kültürü ya da anaerobik kültür amacıyla alınmış, travma sonrası ilk 48 saat içinde alınmış, insan ısırıklarından *ısırik anında* alınmış sürüntü örnekleri laboratuvara kabul edilmez. Tek eküvyon ile gelen örnekten çoklu istem (bakteri, mantar...) yapıldığı durumda ise klinisyen ile görüşülmelidir; böylece en önemli istemin hangisi olduğu öğrenilerek diğerleri için "örnek miktarı yetersiz" notu yazılır ya da diğer istemler için de yeterli olacak şekilde ilave örnek temin edilir.

### Örneklerin işlenmesi

Kültür ve Gram boyama için yaradan en az iki eküvyon ile örnek alınmış olmalıdır. Test istemine göre eküvyon sayısı artırılabilir. Eküvyon 1-2 mL SF veya sıvı besiyerine konulup, vortekslelendikten sonra besiyerlerine ekim yapılır; sonra Gram boyama için preparat hazırlanır. Alternatif olarak, eküvyon direkt ekim için kullanılabilir. Her zaman önce seçici olmayan besiyerine daha sonra seçici besiyerlerine ekim yapılır. *Örneğin*, aerobik kültür için KKA, çikolata agar, MacConkey agara ve gerekirse Columbia colistin-nalidixic acid (Columbia CNA) agara ekimi yapılır.

Yara sürüntü örneklerinin öngörülen mikroorganizmalara göre ekileceği besiyerleri, inkübasyon koşulları ve değerlendirme ölçütleri **Tablo 3**'te sunulmuştur.

**Tablo 2.** Yara sürüntü örneklerinin alınması, taşınması, saklama koşulları, kabul/ret ölçütleri

Örneğin alınmasına ilişkin özellikler	Etken	Taşıma özellikleri	Saklama koşulları	Kabul/ret ölçütleri (Özel durumlar)
Yara önce debride edilir. Yara yerindeki tüm yüzeysel eksuda SF ile temizlenir. Lezyon kuru ise eküvyon SF ile nemlendirilir. Enfekte bölgeye sürülen eküvyon kendi etrafında 5 kez döndürülerek örnek alınır.	Aerobik bakteriler	Transport by, ≤ 2 sa, OS	≤ 24 sa, OS	Yara sürüntü örneği şu aşağıdaki durumlar için alınmış ise RET EDİLİR: • <i>Mycobacterium</i> spp kültürü için alınmış • Anaerobik bakteri kültürü için alınmış • Travma sonrası ilk 48 saat içinde alınmış • İnsan ısınlarında ısınk anında alınmış
	Mantarlar	Transport by veya steril örnek kabı içinde, ≤ 2 sa, OS	OS	

Kısaltmalar – by, besiyeri; sa, saat; OS, oda sıcaklığında

**Tablo 3.** Yara sürüntü örneklerinin kültür için işlenmesi, inkübasyon koşulları ve değerlendirme

Üremesi beklenen mikroorganizma	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı	Önerilen asgari tanımlama düzeyi
		Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre		
A,B,C ve G grubu beta hemolitik streptokoklar	KKA	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	24-48 sa	24. sa, üreme yoksa 48. sa	Lancefield grubu düzeyi
<i>S. aureus</i>	KKA	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	16-24 sa	24. sa, üreme yoksa 48. sa	Tür düzeyinde
<i>N. gonorrhoeae</i>	Çikolata agar, Thayer Martin veya GC selektif agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	48 sa	48. sa	Tür düzeyinde
<i>H. influenzae</i>	Çikolata agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	48 sa	24. ve 48. sa	Tür düzeyinde
HACEK	Çikolata agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	5 g	48. sa ve 5. gün	Tür düzeyinde
<i>Nocardia</i> ve aerop aktinomiçesler	KKA, çikolata agar, BCYE agar (Thayer Martin agar)	35 (BCYE agar 30)	Aerop	En az 2 hafta	İlk hafta her gün, sonra 14. gün	Cins düzeyinde
<i>Corynebacterium</i> spp veya korineformlar	Fosfomisin ve glikoz-6-fosfat içeren kanlı agar	35-37	Aerop	48 sa	24. ve 48. sa	Tür düzeyinde
<i>C. diphtheriae</i> * <i>C. ulcerans</i> *	KKA, CTBA veya Tinsdale agar (taze hazırlanmış)	35-37	Aerop	48 sa	24. ve 48. sa	Tür düzeyinde
<i>P. aeruginosa</i>	MAC	35-37	Aerop	16-24 sa	24. sa	Tür düzeyinde
<i>Enterobacterales</i>	MAC	35-37	Aerop	16-24 sa	24. sa	Tür düzeyinde
<i>Chromobacterium</i>	MAC	35-37	Aerop	16-24 sa	24. sa	Tür düzeyinde
<i>Aeromonas</i> spp	KKA, MAC, CIN agar	35-37	Aerop	16-24 sa	24. sa	Tür düzeyinde
<i>Vibrio</i> spp	TCBS agar, KKA	35-37	Aerop	16-24 sa	24. sa	Tür düzeyinde
<i>Candida</i> türleri	SDA	35-37	Aerop	5 gün	48. sa ve 5. gün	Tür düzeyinde
<i>Actinomyces</i> türleri	Anaerop kanlı agar (K vitamini ve hemin içeren)	35-37	Anaerop	5-7 gün	48. sa ve 5. ve 7. gün	Tür düzeyinde

Kısaltmalar – HACEK, *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, *Eikenella corrodens*, *Kingella*; KKA, %5 koyun kanlı agar; BCYE, buffered charcoal yeast extract; CTBA, cystine tellurite blood agar; MAC, MacConkey agar; CIN, cefsulodin-irgasan-novobiocin; TCBS, thiosulfate citrate bile-salts sucrose; SDA, Sabouraud dextrose agar; THIO, thioglycollate (broth) medium

\* *C. diphtheriae* ve *C. ulcerans* yara differisinde örneklerden izole edilebilir. Normalde KKA'da üreyebilen bakterilerdir; bununla birlikte eğer örnekler yara differisi şüphesi ile gelmişse CTBA'ya veya taze hazırlanmış Tinsdale besiyerine de ekim yapılmalıdır. Yara differisinin epidemiyolojik önemi tartışmalıdır. Yine de bu etkenlerin izolasyonu halinde *mutlaka* izolatın **toksin üretimi** araştırılmalı; laboratuvar bunun için HSGM Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı Daire Başkanlığı ile iletişim kurulmalıdır.



## Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Besiyerleri inkübasyon süresi boyunca **her gün** incelenmelidir. Sayıları ne olursa olsun bildirilecek patojenler: *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *Francisella tularensis*, *P. aeruginosa*, *Vibrio* ve *Aeromonas* türleri, A ve B grubu streptokoklar, *S. aureus*, *C. ulcerans*, *B. cereus*, *B. anthracis*, *Listeria*, *Brucella* ve *Pasteurella* türleri, *Chromobacterium*, *Sphingobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Arcanobacterium*, *Actinomyces*, *Nocardia*, *Erysipelothrix*, *N. meningitidis*, *Capnocytophaga*, *E. corrodens*, *K. kingae*, *S. moniliformis*, *B. zoohelcum*, zoonotik *Neisseria*, abdominal ve genital örneklerden *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Shigella*, *Salmonella* ve *Yersinia* türleri şeklinde listelenebilir.

Yara sürüntü kültürlerinin değerlendirilmesinde, **sürüntü örneğinin niteliği** önemlidir. Geleneksel olarak Gram boyalı preparatta PNL görülmesine karşın yassı epitel hücresi az sayıda olan veya mevcut olmayanlar ya da steril bölgeden alınmış olan örnekler değerli kabul edilir. Böyle örneklerin kültürlerinde direkt boyalı preparatta gözlenen bakteri morfolojisi ile uyumlu potansiyel patojenlerin üremesi durumunda, üreyen  $\leq 3$  farklı potansiyel patojen mikroorganizma etken kabul edilerek tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testleri (ADT) yapılır.

Bağışık yetmezliği veya diyabeti olan hastalarda, açık yaradan alınan örneklerin Gram boyama yöntemiyle incelenmesinde PNL görülenler kaliteli örnek olarak değerlendirilir. Eğer örnekte PNL yok, orta ya da çok sayıda yassı epitel hücresi var ve klinik bulgular enfeksiyonla uyumlu değil ise örnek değerli kabul edilmez. Bu durumda kültürde  $>3$  farklı mikroorganizma üremesi varsa tanımlama ve ADT yapılmaz, "Karışık flora elemanları üredi" şeklinde raporlanır. Yara sürüntü örneklerinin mikroskopik inceleme ve kültür sonuçlarının değerlendirilmesi ve raporlanması aşağıdaki tabloda özetlenmektedir.



Sürüntü örneklerinin inceleme sonuçlarının değerlendirilmesi ve raporlanması

Üreyen mikroorganizma	Değerlendirme	Rapor
<i>S. pyogenes</i>	Sayı ne olursa olsun bildirilmelidir.	<i>S. pyogenes</i> üredi
<i>S. agalactiae</i>	Sayı ne olursa olsun bildirilmelidir.	<i>S. agalactiae</i> üredi
Grup C,G streptokoklar	Sayı ne olursa olsun bildirilmelidir.	Grup C streptokok veya Grup G streptokok üredi
Viridans streptokoklar veya enterokoklar	İnvaziv örneklerde, tek veya baskın mikroorganizma ya da PNL çok ise cins düzeyinde raporlanır. Yüzeyel yara örneklerinde karışık kültürlerde üreme (miktarı önemsiz) veya baskın üreme yoksa yandaki gibi raporlanır.	Viridans Grup Streptokok üredi. <i>Enterococcus</i> spp üredi.
<i>S. aureus</i>	Sayı ne olursa olsun bildirilmelidir.	<i>S. aureus</i> üredi
KNS	Ancak invaziv örneklerde <i>tek tip</i> mikroorganizma izole edildi ise, <i>tekrarlayan</i> üreme varsa, örnek <i>kaliteli</i> ise, direkt yaymada PNL varsa klinisyenle görüş alışverişi yapılarak yandaki gibi raporlanır. Çok sayıda epitel hücresi mevcut veya kültürde karışık üreme varsa yandaki gibi raporlanır.	Koagülaz Negatif Stafilokok üredi. Normal deri flora mikroorganizmaları üredi.
<i>P. aeruginosa</i>	Sayı ne olursa olsun bildirilmelidir.	<i>P. aeruginosa</i> üredi
<i>C. perfringens</i>	Sayı ne olursa olsun bildirilmelidir.	<i>C. perfringens</i> üredi
<i>B. anthracis</i> *	Sayı ne olursa olsun bildirilmelidir.	<i>B. anthracis</i> üredi.
<i>C. diphtheriae</i> * <i>C. ulcerans</i> *	Sayı ne olursa olsun bildirilmelidir. İzolatın toksin üretimi araştırılmalıdır.	(toksin pozitif/negatif) <i>C. diphtheriae</i> / <i>C. ulcerans</i> üredi.

Üreyen mikroorganizma	Değerlendirme	Rapor
Gram-pozitif basil	<i>Listeria</i> , * <i>Erysipelothrix</i> , <i>B. cereus</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Arcanobacterium</i> , tanımlanır.	<i>Listeria</i> / <i>Erysipelothrix</i> / <i>B. cereus</i> / <i>Nocardia</i> / <i>Actinomyces</i> / <i>Arcanobacterium</i> üredi.
	Üstte belirtilenlerin dışındaki Gram-pozitif basiller (korineformlar) genellikle cilt florasıdır. İnvaziv örneklerde tek veya baskın mikroorganizma ya da PNL çok ise <i>cins düzeyinde</i> raporlanır. Bu özellikleri taşıyorsa yandaki gibi raporlanır.	Normal deri flora mikroorganizmaları üredi.
<i>Salmonella</i> spp* <i>Shigella</i> spp* <i>Yersinia</i> spp*	Bu etkenlerin yaradan izolasyon olasılığı çok düşük olmakla birlikte <i>Enterobacteriales</i> spp düşünülen üreme gözlemlendiğinde ayırıcı tanı ile ekarte edilmelidirler; tanı konduğu durumda ise sayı ne olursa olsun bildirilirler.	<i>Salmonella</i> spp / <i>Shigella</i> spp / <i>Yersinia</i> spp üredi.
<i>Enterobacteriales</i> ailesi	Baskın veya orta-çok sayıda ürediyse ya da sadece 1 veya 2 tür üredi veya baskınsa ve Gram yayma enfeksiyonu destekliyorsa raporlanır.	Örn., "E. coli üredi" şeklinde
	Az sayıda ve baskın değilse veya 2'den fazla tür varsa yandaki gibi raporlanır.	Karışık gastrointestinal sistem florası üredi.
<i>Brucella</i> * <i>Haemophilus</i> * <i>Pasteurella</i> * <i>Francisella</i> *	Yaradan izolasyon olasılığı düşüktür. Daha çok köpek ve kedi ısırığı yaralarından izole edilirler. MAC veya EMB'de üremeyen Gram-negatifler olarak dikkati çekerler. Sayı ne olursa olsun bildirilmelidir.	<i>Brucella</i> spp / <i>Haemophilus</i> spp / <i>Pasteurella</i> spp / <i>Francisella</i> spp üredi.
<i>Campylobacter</i> spp*	Yaradan izolasyon olasılığı çok düşük. Sayı ne olursa olsun bildirilmelidir.	<i>Campylobacter</i> spp üredi
<i>Aeromonas</i> , <i>Vibrio</i>	Sayı ne olursa olsun bildirilmelidir.	<i>Aeromonas</i> spp / <i>Vibrio</i> spp üredi.
<i>Candida albicans</i>	İnvaziv örneklerde ya da baskın üremiş ise tanımlanır ve rapor edilir.	<i>C. albicans</i> üredi.

\*Bu etkenler bildirim zorunlu hastalıklar listesinde yer alırlar. Klinik örneklerden izole edilebilmeleri için genellikle ön tanıda akla getirilmiş olmaları ve laboratuvarın özel olarak talep edilmeleri gerekebilir. İzolasyon ve identifikasyon basamakları UMS(2014)'de ayrıntılı olarak verilmiştir. Toksin tanımlanması gereken durumlar için HSGM Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı ile iletişim kurulmalıdır.

Yara sürüntü kültürlerinin değerlendirilmesinde kullanılan bir diğer ölçüt **Q skora** sistemidir. Bu sistem, sürüntü Gram yaymalarının düşük büyütmede (10x) her alanda görülen epitel hücre sayısının *eksi* puan, nötrofil sayısının *artı* puan olarak eklenmesi ile sayısal bir değer (Q skoru) elde edilmesi prensibine dayanır. Algoritma **Tablo 4**'te verilmiştir. Genel yaklaşım, bu skora sonucunda kaliteli örnekte en fazla 3 farklı potansiyel patojen üremesi olduğunda tanımlama ve ADT yapılması şeklindedir. Düşük kaliteli örnekte ise en fazla 2 tür tanımlanır.

**Tablo 4.** Q skora tablosu (Matkoski C, et al., 2006)

	Hücre sayısı 10x her alanda	Skor	Yassı (skuamöz) epitel hücresi			
			Hücre sayısı 10x her alanda	1-9	10-24	>24
Nötrofil	0	0	3	0	0	0
	1-9	+1	3	0	0	0
	10-24	+2	3	1	0	0
	>24	+3	3	2	1	0

Q skoru	Kültürde işleme alınacak potansiyel patojen sayısı
Q0	Kültür işleme alınmaz
Q1	1 tür patojene kadar işleme alınır
Q2	2 tür patojene kadar işleme alınır
Q3	3 tür patojene kadar işleme alınır

Değerlendirme sonucunda Q skoru sıfır (Q0) bulunmuşsa, üreyen bakterilere tanımlama yapılmaz. Q1'de üreyen en fazla bir, Q2'de en fazla iki farklı, Q3'te ise en fazla üç farklı bakteri tanımlanır (**Tablo 4**). Q skoru, kültürde üreyen farklı potansiyel patojenlerin sayısından büyük ise üreyen etkenlerin hepsi tanımlanır ve ADT yapılır. Eğer Q skoru, kültürde üreyen potansiyel patojen sayısından küçük ise tanımlama ve ADT açısından karar vermek için Gram boyalı preparata bakılır. Kültürde üreyip Gram boyalı preparatta da görülebilen tüm potansiyel patojenlere tanımlama ve ADT yapılırken, görülemeyenler sadece tanımlanır.

## Yanık yara enfeksiyonlarının incelenmesi

Yanık yaralarında klinik bulgu ve belirtiler enfeksiyon tanısı koymada yetersizdir. Dokuda önemli miktarlarda bakteri varlığı, gecikmiş iyileşme ile ilişkili olan ve enfeksiyonla da ilişkilendirilen bir dizi faktörden biridir. Enfeksiyonun varlığını ve yaygınlığını izlemek için yanık yarasından **yüzeysel sürüntüsü** örneğinin yarı kantitatif kültürünün veya **doku biyopsi** örneği alınarak kantitatif kültürünün yapılması önerilir.

Bakteriyel kolonizasyon eğilimini izlemek için aynı bölgeden haftada 2 kez sürüntü örneği alınır. Sürüntü kültürünün önemli bir sınırlılığı, mikrobiyal üremenin, hasarlı deri altı veya derin dokulara ilerleyen mikroorganizmalardan ziyade yaranın yüzeyindeki mikrobiyal topluluğu yansımasıdır. Bu nedenle doku invazyonunun kapsamını daha iyi saptamak için doku biyopsisinin kantitatif bakteri kültürü histopatolojik inceleme ile de desteklenmelidir. Özellikle greft konması gereken hastalarda biyopsi örneğinin kantitatif kültürü yapılmalıdır.

Yanık yarasında mikroorganizma yaranın her yerine eşit dağılmayabilir; bu nedenle yaranın farklı yerlerinden örnek alınmalıdır. Her laboratuvarında kantitatif kültür yapılmayabilir. Yarı kantitatif sürüntü kültürünün yapılması genellikle hasta yönetimi için yeterlidir.

Herhangi bir örnek alma veya biyopsi öncesinde yara iyice temizlenmeli ve kültür sonuçlarını etkileyebilecek topikal antimikrobiyallerden ve kalıntılardan arındırılmalıdır. Yaraya sekonder bir sistemik enfeksiyonun tespiti söz konusu ise kan kültürleri de alınmalıdır.

Ağırlıklı olarak kronik yaralarla uğraşan bakım merkezlerine kantitatif yara kültürü hizmeti veren laboratuvarlar için klinik açıdan anlamlı sonuçların elde edilmesi, esasen yaranın derinliklerinden (yarayı kolonize eden yüzeysel/yüzeysel altı mikrobiyal floradan/biyofilm katmanından kaçınacak şekilde) doku elde edilmesine bağlıdır.

Sürüntü örneğinin kültür sonucu her zaman gerçek etkeni göstermeyebilir. Flora elemanları yüzeysel kolonizasyonu gösterir. Ayrıca her laboratuvarında kantitatif kültür yapılamayabilir.

## Kantitatif kültür

Yanık yara enfeksiyonlarında kantitatif kültür için aljinatlı eküvyon ile örnek alınmalıdır.

- Eküvyon 5 mL Ringer laktat solüsyonu içerisine konarak vortekslenir, sonra eküvyon çıkarılır.
- Elde edilen süspansiyonun, uygun volümde %0.85'lik NaCl ile  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  şeklinde sulandırılmaları hazırlanır.
- Her bir dilüsyondan 0.1 mL KKA (veya çikolata agar) ve MAC (veya EMB) plaklarına ekim yapılarak  $35^{\circ}\text{C}$ 'de %5  $\text{CO}_2$ 'li ortamda 18-24 saat inkübe edilir.
- İnkübasyon sonunda besiyerlerinde üreyen (30-300 arası) koloniler sayılır ve dilüsyon faktörü ile çarpılarak üreyen bakteri sayısı belirlenir.

Biyopsi örneğinin kantitatif kültüründe  $10^5$  koloni/gr anlamlı kabul edilirken eküvyonla alınan sürüntü örneğinde anlamlılık sınırı  $10^3$  koloni/mL olarak ele alınır.

## Kaynaklar

1. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(2):244-269. erişim t. 20/01/2024 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88973/pdf/cm000244.pdf>
2. Feuilhade de Chauvin M. New diagnostic techniques. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005; 19 (Suppl 1):20-4.
3. Matkoski C, Sharp SE, Kiska DL. Evaluation of the Q score and Q234 systems for cost-effective and clinically relevant interpretation of wound cultures. *J Clin Microbiol* 2006; 44(5): 1869-72.
4. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 Update by the IDSA and the ASM. *Clin Infect Dis* 2018; 67(6): e58-e63. erişim t. 20/01/2024 <https://academic.oup.com/cid/article/67/6/e1/5046039>
5. UK Standards for Microbiology Investigations. Investigation of swabs from skin and superficial soft tissue infections. *Bacteriology, SMI B11, Issue no6.5, Dec 2018; 1-37* erişim t. 20/01/2024 [https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5c1a4a4840f0b60c22fb8ebb/B\\_11i6.5.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5c1a4a4840f0b60c22fb8ebb/B_11i6.5.pdf)
6. York MK, Sharp SE, Bowler PG. Wound and soft tissue cultures. *In: Garcia LS, Isenberg HD (eds). Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2<sup>nd</sup> ed. update (2007). ASM Press, Washington, DC. 2007: 3.13.1.*

## BÖLÜM 3

### APSE ve ASPİRAT ÖRNEKLERİ

Apseler dokuda irin birikmesidir ve izole edilen herhangi bir organizma önemli olabilir. Vücudun birçok yerinde yüzeysel enfeksiyonlar veya iç organlarla ilişkili derin enfeksiyonlar olarak ortaya çıkabilirler. Apselerin çoğuna yalnızca *Staphylococcus aureus* neden olur, geri kalanı da sıklıkla karışık enfeksiyondur. Anaeroplara karın içi abselerde ve oral ve anal bölgelerdeki abselerde baskın izolatlardır. "*Streptococcus anginosus*" grubu ve *Enterobacteriales* üyeleri de bu bölgelerdeki lezyonlarda sıklıkla bulunur. Tanı amacıyla apse örneklerinin incelendiği enfeksiyonlar ve olası etkenler **Tablo 5**'te sunulmaktadır.

#### Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Apse tanısında cerrahi işlem ile alınan **dokular** ve enjektör ile alınan **aspirasyon örnekleri** mikrobiyolojik kültür için en değerli örneklerdir. Bütünlüğü bozulmuş deriden alınan apse örneklerinin değerlendirilmesi, burada çok sayıda flora organizması kolonize olabildiği için zordur. Örnek almadan önce yapılacak **cilt temizliği** kontaminasyon riskini azaltır; önce %2 klorheksidin veya %10 povidon iyot ve arkasından %70 alkol ile cilt temizliği yapılmalıdır.

**Tablo 5.** Vücudun farklı bölgelerinde gelişen enfeksiyonlara göre apse örneklerinde olası etkenler

Enfeksiyon	Olası etkenler
Fronkül, karbunkül	<i>S. aureus</i>
Deri absesi (koltuk altı, paronşi, meme, el, baş, boyun, gövde)	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Propionibacterium</i> spp, <i>Peptostreptococcus</i> spp, <i>Candida</i> spp, diğer mayalar
Deri absesi (perineal, vulvo-vajinal, skrotal, perianal, kalça)	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Propionibacterium</i> spp, <i>Peptostreptococcus</i> spp, <i>Streptococcus</i> spp
Deri absesi (intravenöz ilaç kullanıcılarında)	Oral streptokoklar, <i>Streptococcus anginosus</i> grup, <i>F. nucleatum</i> , <i>Prevotella</i> spp, <i>Porphyromonas</i> spp, <i>S. aureus</i> , <i>Clostridium</i> spp, <i>Candida</i> spp, diğer mayalar
Yumuşak doku absesi	<i>Pasteurella</i> , <i>Actinobacillus</i> spp, <i>Haemophilus</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Cardiobacterium</i> , <i>Eikenella</i> , <i>Kingella</i> spp, <i>Burkholderia pseudomallei</i> , <i>Candida</i> spp, diğer mayalar, küfler
Diş absesi	Alfa hemolitik streptokoklar, anaerop streptokoklar, <i>S. anginosus</i> grup, anaerop Gram-negatif basiller, <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , spiroketler, <i>Actinomyces</i> spp
Perirektal apse	Anaerop bakteriler, <i>Enterobacteriales</i> , streptokoklar, <i>S. aureus</i>
Pilonidal apse	Anaerop bakteriler, <i>Enterobacteriales</i> , Beta hemolitik streptokoklar, <i>S. aureus</i>
Psoas absesi	<i>Enterobacteriales</i> , <i>Bacteroides</i> spp, <i>S. aureus</i> , streptokoklar, <i>M. tuberculosis</i>
Baş saçlı derisi absesi	Anaerop bakteriler, Beta hemolitik streptokoklar, <i>S. aureus</i> , <i>Enterobacteriales</i> , enterokoklar, KNS, dermatofitler, <i>Candida</i> spp, diğer mayalar

Mikrobiyolojik inceleme için pürülan materyalin enjektör ile aspire edilerek alınması anlamlı sonuç elde edilmesi için önemlidir. Örneğin biyopsi ya da aspirasyonla alınamadığı durumlarda, lezyonun dip kısmındaki eksudadan eküvyon ile örnek alınabilir. Eküvyon ile alınan örneklerin mikrobiyolojik inceleme açısından değerinin düşük olduğu hatırlanmalıdır.

## Örnek alınması

Örnekler antimikrobik tedavi başlanmadan önce alınmalıdır. Eküvyon harici örnekler sızdırmaz taşıyıcı kaplara konmalıdır. Örnek sayısı ve örnek alma sıklığı hastanın klinik durumuna göre belirlenir. Alınan örnek *tek başına* "apse" veya "püy" vb. şeklinde etiketlenmemeli; etikette vücut bölgesi ve lezyon tipi bilgisi de yer almalıdır.

**Kapalı apse**den örnek (apse içeriği) bir enjektör yardımıyla alınır. Yeterli miktarda örnek aspire edilemiyorsa, apsenin içine steril SF enjekte edilebilir ve ardından aspirasyon işlemi tekrarlanır. İdeal olarak en az 1 mL püy örneği alınmalıdır.

**Püy** veya eksuda varsa, lezyonun en derin bölgesinden steril enjektör ile aspire edilerek örnek alınır. Drenaj ya da eksizyon sonrası lezyonun tabanından biyopsi örneği de alınır.

**Sürüntü** örneği doku ya da aspirasyon materyali alınamadığı durumda kullanılır. Önce yüzeysel ölü dokular steril SF ile yıkanarak uzaklaştırılır ve lezyonun dip kısmındaki eksudadan *çift eküvyon* ile beş kez döndürülerek örnek alınır; materyal eküvyona iyice emdirilmelidir.

## Örneklerin taşınması

Örnekler sızdırmaz taşıma kapları içerisinde taşınır. Aksi belirtilmedikçe bakteri ve mantar kültürü için alınan sürüntü örnekleri kömür tozlu **Amies** taşıma besiyerinde taşınmalıdır.

Anaerobik kültür için alınan örnekler dış ortamla olabildiğince az temas edecek şekilde anaerop taşıma besiyerine aktarılır ve mümkünse en kısa sürede laboratuvara gönderilir. Taşıma besiyeri olarak **Cary-Blair** besiyeri ve içinin havası boşaltılarak N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub> gaz karışımı içeren tüpler de kullanılabilir. Enjektörle alınmış apse içeriği, içinde kalan hava çıkarıldıktan sonra enjektörün ucu hava geçirmeyecek şekilde kapatılarak laboratuvara gönderilebilir.

Örneklerin mümkün olan en kısa sürede laboratuvara ulaştırılması ve işleme alınması gerekir. Aspirasyon ve doku örneklerinin 30 dakika içinde laboratuvara ulaştırılması idealdir. Örnek miktarı, kabul edilebilir taşıma süresini etkiler. Büyük hacimli pürülan materyallerde anaerop mikroorganizmalar daha uzun süre canlı kalabilirler.

Örneklerin işleme alınmasında gecikme olacaksa örnekler oda sıcaklığında bekletilir, buzdolabına konmaz. Düşük sıcaklıklarda oksijen daha iyi çözüldüğünden anaeroplara zarar görebilir.

## Ret ölçütleri

Laboratuvara gelen örnekler için hemen her zaman şu durumlar ret gerekçesidir:

- taşıma kabı hasar gördüğü için örnek kabın dışına sızmış veya sterilitesi bozulmuş ise,
- örnek önerilen süre içerisinde ve uygun sıcaklıkta gönderilmemiş ise,
- örnek tüpü/kabı üzerinde hasta bilgileri yazılı değilse,
- hastaya ait uygun bir istek formu düzenlenmemiş ise, ve
- örnek formalin içine konularak gönderilmiş ise - formaline konmuş örnekler, bazı parazitolojik incelemeler hariç, mikrobiyolojik inceleme için uygun değildir!



**Eküvyonla alınan örnekler anaerobik kültür için tercih edilmez! Anaerop bakterilerin araştırılması hedefleniyorsa eküvyon ile alınan örnekler *ancak* çok özel şartlarda hasta başı ekimlerde kullanılabilir ya da laboratuvara mutlaka anaerop transport vasatı içinde gönderilir!**

Bunlara ek olarak apse incelemesinde; eküvyonla alınmış ama taşıma besiyerine konmamış örneklerin laboratuvara transferi bir saati geçmiştirse, örnek reddedilmelidir.

Örnekte PNL'lerin varlığı inflamasyon belirteci olarak önemlidir. Gram boyama ile çok sayıda epitel hücresi görülmüşse yüzeysel floranın kontaminasyonunu düşündürür ve kültür sonucunun güvenilirliğini azaltır. Özellikle eküvyonla alınan örneklerde Gram yaymasında çok sayıda epitel hücresi görüldüğünde inceleme için yeni bir örnek istenmelidir.

## Örneklerin işlenmesi ve iş akışı

Tüm örneklere Gram boyama yapılmalı ve hangi incelemelerin yapılacağına karar verirken Gram boyama sonuçları dikkate alınmalıdır.

Pü y ya da santrifüj edilmiş materyalden steril bir pipet yardımıyla besiyerine bir miktar damlatılır. Farklı kolonilerin saptanabilmesi için steril öze ile örnek yayılır ya da azaltma ekimi yapılır. Sürüntü örnekleri agar yüzeyine eküvyon yardımıyla inoküle edilir ve farklı kolonilerin saptanabilmesi için steril öze ile azaltma ekimi yapılır. Kalan pü y/aspirat örneği +4°C'de en az 7 gün veya sonuç raporu çıkana dek saklanmalıdır.

Apse ve aspirat örneklerinde üremesi beklenen mikroorganizmalara göre kullanılması önerilen besiyerleri inkübasyon koşulları ile tanımlama düzeyleri **Tablo 6**'da sunulmaktadır.

**Tablo 6.** Apse/aspirat kültürleri için kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve değerlendirme

Hedef mikroorganizma	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı	Önerilen asgari tanımlama düzeyi
		Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre		
<i>S. aureus</i>	KKA	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	16-24 sa	24. sa; üreme yoksa 48. sa	Tür düzeyinde
Streptokoklar Enterokoklar	KKA	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	24-48 sa	24. sa; üreme yoksa 48. sa	Lancefield grubu düzeyinde
<i>Enterobacterales</i> <i>Pseudomonas</i> spp <i>Acinetobacter</i> spp	EMB, MAC	35-37	Aerobik	16-24 sa	>16 sa	Tür düzeyinde
<i>H. influenzae</i>	Çikolata agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	48 sa	>40 sa	Tür düzeyinde
HACEK	Çikolata agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	5 gün	48. sa, 5. gün	Tür düzeyinde
Anaeroplara	CDC Anaerobik kanlı agar, <i>Brucella</i> kanlı agar, BHI agar*, THIO, Glikozlu kıymalı buyyon**, Neomisin-vankomisin selektif agar, Fenil etil alkollü agar#	35-37	Anaerobik	5-7 gün	48. sa, 5. ve 7. gün	Tür düzeyinde
<i>Actinomyces</i> spp	Metronidazol ve nalidiksik asit eklenmiş kanlı agar	35-37	Anaerobik	10 gün	48. sa, 7. ve 10. gün	Tür düzeyinde
<i>Nocardia</i> spp	Kanlı agar	35-37	Aerobik	7 gün	3. ve 7. gün	Tür düzeyinde
Mantar etkenleri	SDA	30 ve 35-37	Aerobik	3-4 hafta	İlk hafta her gün, sonra 2 günde bir	Tür düzeyinde

**Kısaltmalar** – HACEK, *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, *Eikenella corrodens*, *Kingella*; KKA, koyun kanlı agar; MAC, MacConkey agar; BHI, brain heart infusion; SDA, Sabouraud dextrose agar; THIO, thioglycollate medium; sa, saat; OS, oda sıcaklığında

\*Bu besiyerine %5 koyun kanı, hemin, K1 vitamini ve L-sistein ilave edilmelidir.

\*\*Sıvı besiyerinde oluşan üremelerden uygun besiyerlerine subkültür yapılır.

# Besiyeri taze hazırlanmış olmalıdır; buzdolabında bekletilmiş besiyerinde anaerobik bakterilerin izole edilmesi mümkün değildir.

## Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Apse tanısı için gelen örneklerin Gram boyama ve kültür sonuçlarının raporlanması ile ilgili hususlar aşağıda tablo halinde özetlenmiştir.



Apse/aspirat örneklerinin inceleme sonuçlarının raporlanması

Gram boyalı mikroskopik inceleme	Lökositler ve saptanan mikroorganizmalar raporlanır.
Kültür sonucunu raporlama	Floralı bölgelerden alınan örneklerde, <i>linik olarak anlamlı</i> olan üremeler raporlanır. Aspirat, biyopsi, normalde steril vücut bölgelerinden sıvı örneklerinin kültürlerinde <i>üreyen tüm mikroorganizmalar</i> raporlanır. Üremeler ADT sonuçlarıyla beraber bildirilmelidir. Üreme saptanmaz ise "..... günde üreme olmadı" şeklinde raporlanır.

## Raporlama süresi

Gram boyama sonuçları mümkün olan en kısa sürede raporlanır. Kritik bölgelerden alınan örneklerin **1 saat içerisinde** raporlanması idealdir. Sonuç mutlaka telefonla bildirilmelidir.

Klinik açıdan önemli potansiyel izolatlarla ilişkin **ara** veya **ön sonuçlar**, üreme tespit edilir edilmez bildirilmelidir. Acil sonuçlar telefonla bildirilmeli veya elektronik yoldan iletilmelidir.

Nihai yazılı veya bilgisayarda oluşturulan *kesin* raporlar, ön/sözlü raporları mümkün olan en kısa sürede takip etmelidir.

## Kaynaklar

1. Brook I. Abscesses. In: Brogden KA, Guthmiller JM (eds). Polymicrobial Diseases. Washington (DC): ASM Press; 2002. Chapter 9. erişim t. 20/01/2024 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2497/>
2. UK Standards for Microbiology Investigations. Investigation of pus and exudates. Bacteriology, SMI B14, Issue no 6.2, Nov 2016; 1-59. erişim t. 20/01/2024 [https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a758e9de5274a545822c717/B\\_14i6.2.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a758e9de5274a545822c717/B_14i6.2.pdf)
3. UK Standards for Microbiology Investigations. Investigation of swabs from skin and superficial soft tissue infections. Bacteriology, SMI B11, Issue no 6.5, Dec 2018; 1-37 erişim t. 20/01/2024 [https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5c1a4a4840f0b60c22fb8ebb/B\\_11i6.5.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5c1a4a4840f0b60c22fb8ebb/B_11i6.5.pdf)
4. York MK, Sharp SE, Bowler PG. Wound and soft tissue cultures. In: Garcia LS, Isenberg HD (eds). Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2<sup>nd</sup> ed. update (2007). ASM Press, Washington, DC. 2007: 3.13.1.



## BÖLÜM 4

### DOKU ve BİYOPSİ ÖRNEKLERİ

Biyopsi, inceleme için vücuttan alınan doku parçası olarak tanımlanır. Günümüzde vücudun hemen her bölgesinden biyopsi yapılabilir. Biyopsi, genellikle bir operasyon ile elde edilmesi nedeniyle ve çoğu durumda işlem tekrarlanamayacağı için **değerli** bir örnektir.

Deri biyopsisine sıklıkla derinin akut yara, yanık yarası veya ülserlerinin enfeksiyonları tanısında sürüntü örneklerine kıyasla daha güvenilir sonuç alınabileceği için ya da kronik yara ve granülomatöz oluşumlarının enfeksiyöz olup olmadığını incelemek için başvurulur. Deri ve yumuşak dokuların bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarından başka çeşitli doku parazitlerinin (*Onchocerca volvulus*, *Mansonella streptocerca* ve *Leishmania spp* gibi) araştırılması için de deri biyopsileri başvurulması gereken örneklerdir. Ayrıca, yüzücüler ve tropikal balık yetiştiricilerinde yüzme havuzu veya akvaryum granülomu olarak adlandırılan *Mycobacterium marinum* kaynaklı ve suyla temas ve yaralanma ile ilişkili kronik cilt enfeksiyonu vakalarını doğrulamak için de kullanılırlar.

#### Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Deride bulunan açık yaralar, derinin mikrobiyotası veya çevre mikroorganizmaları tarafından kolonize olur. Deri lezyonlarında gerçek enfeksiyon etkeninin belirlenebilmesi için yara yüzeyini kaplayan organizma topluluğunun uzaklaştırılması ve lezyon tabanından doku biyopsisi alınıp işlenmesi gerekir.

#### Örneklerin alınması, taşınması

Yara, bol miktarda steril SF ve steril gazlı bezle (bez sık sık değiştirilerek) yıkanır; yüzeydeki ölü dokular uzaklaştırılır.

Örnek, yara yatağından kazıntı şeklinde veya bisturi ile doku parçası halinde alınır. Örneğin yara kenarıyla sağlam dokunun birleştiği yerden alınmış olması tercih edilir. Doku parçaları 3-4 mm büyüklüğünde olmalıdır. Nekrotik doku ile bulaş olmamalıdır.

Küçük doku parçaları anaerop taşıma kabı içinde laboratuvara gönderilmelidir. Büyük miktardaki örnekler, tabanı ıslak steril gazlı bez ile döşenmiş, ağız kapaklı steril kaplar içinde nakledilebilir.

İdeal olarak bu örneklerin zamanında taşınıp işleme alınması ve uygun testlerin yapılması için alınmadan önce laboratuvarla görüşülmelidir. Mümkünse örnekler 30 dakika içinde laboratuvara ulaştırılmış olmalıdır.

## Ret ölçütleri

Laboratuvara gelen örnekler için hemen her zaman şu durumlar ret gerekçesidir:

- taşıma kabı hasar gördüğü için örnek kabın dışına sızmış veya sterilitesi bozulmuş ise,
- örnek önerilen süre içerisinde ve uygun sıcaklıkta gönderilmemiş ise,
- örnek tüpü/kabı üzerinde hasta bilgileri yazılı değilse,
- hastaya ait uygun bir istek formu düzenlenmemiş ise, ve
- örnek formalin içine konularak gönderilmiş ise - formaline konmuş örnekler, bazı parazitolojik incelemeler hariç, mikrobiyolojik inceleme için uygun değildir!

## Örneklerin işlenmesi ve iş akışı

- Doku parçaları steril havan içine konur, önce steril bir bisturi ile parçalara ayrılır, ardından yaklaşık 1 mL sıvı besiyeri eklenerek örnek ezilir. Homojen hale getirilen örnekten, **aerop** ve **anaerop kültürler** yapılır. Bu amaçla, **Tablo 3'**te verilen katı besiyerlerine steril pipet ile 2-3'er damla (örnek *pürülan* ise 1'er damla) damlatılarak, bir-iki damla da tiyoglikolatlı sıvı besiyerinin orta veya dip kısmına bırakılarak ekilir.
- Enfeksiyon genellikle çok sayıda karışık bakterilerce oluşturulmuştur. Bu nedenle farklı türleri ayırt edebilmek için katı besiyerine damlatılan örnekler azaltma yöntemiyle ekilmelidir. Plaklar uygun atmosfer koşullarında, yeterli süre inkübe edilir (bkz. **Tablo 3**).
- Besiyerlerine ekimi takiben, örnekten lamlara da sürülerek **preparat** hazırlanır. Hazırlanan preparatlar Gram yöntemiyle boyanarak incelenmelidir.



**Metanol ile tespit edilen** preparatların, ısıyla tespit edilenlere göre **daha iyi görüntü verdikleri bilinmektedir!**

## Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Doku/biyopsi örneklerinin Gram boyama ve kültür sonuçlarının raporlanması ile ilgili hususlar aşağıda tablo halinde özetlenmiştir.



### Doku/biyopsi örneklerinin inceleme sonuçlarının raporlanması

Gram boyalı mikroskopik inceleme	Mikroskopik incelemede, var olan mikroorganizmaların boyanma özellikleri, şekilleri ve kaç tür mikroorganizmanın bulunduğu, lökositlerin olup olmadığı belirtilmelidir.
Kültür sonucunu raporlama	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Uygun alınmış ve uygun şekilde laboratuvara gönderilmiş örneklerde üreyen aerop bakteriler <b>tür</b> düzeyinde, anaerop bakteriler <b>cins</b> düzeyinde tanımlanmalıdır (bkz. <b>Bölüm 2</b> "Sürüntü örneklerinin inceleme sonuçlarının değerlendirilmesi ve raporlanması tablosu)</li> <li>• Mikroskop görüntüsünde çok sayıda lökosit ve bakteri bulunan, baskın olarak saf kültür halinde üreyen <i>S. aureus</i>'a, Gram-negatif basillere ve enterokoklara ADT yapılmalıdır.</li> <li>• Kültürde karışık üreme varsa, bu bakterilerden biri baskın şekilde ürememiş ise minimal tanımlama testleri uygulanmalıdır. Örneğin Gram boyamasında çok sayıda epitel hücresi varsa ve kültürde karışık üreme var ise "Normal deri flora mikroorganizmaları üredi." şeklinde rapor edilmelidir.</li> <li>• Üreme saptanmaz ise "..... günde üreme olmadı" şeklinde raporlanır.</li> </ul>

## Raporlama süresi

Gram boyama sonuçları mümkün olan en kısa sürede raporlanır. Kritik bölgelerden alınan örneklerin **1 saat içerisinde** raporlanması idealdir. Sonuç mutlaka telefonla bildirilmelidir.

Klinik açıdan önemli potansiyel izolatlarla ilişkin **ara** veya **ön sonuçlar** üreme tespit edilir edilmez bildirilmelidir. **Acil sonuçlar** telefonla bildirilmeli veya elektronik yoldan iletilmelidir.

Nihai yazılı veya bilgisayarda oluşturulan kesin raporlar, ön/sözlü raporları mümkün olan en kısa sürede takip etmelidir.

## Kaynaklar

1. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 Update by the IDSA and the ASM. *Clin Infect Dis* 2018; 67(6):e58–e63. erişim t: 20/01/2024 <https://academic.oup.com/cid/article/67/6/e1/5046039>
2. UK Standards for Microbiology Investigations. Investigation of tissues and biopsies from deepseated sites and organs. *Bacteriology, SMI B17*, Issue no 6.3, Jan 2018; 1-26 erişim t: 20/01/2024 [https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a82c003e5274a2e8ab59284/B\\_17i6.3.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a82c003e5274a2e8ab59284/B_17i6.3.pdf)
3. York MK, Sharp SE, Bowler PG. Wound and soft tissue cultures. In: Garcia LS, Isenberg HD (eds). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2nd ed. update (2007). ASM Press, Washington, DC. 2007: 3.13.1.

*Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır.*

# BÖLÜM 5

## DERMATOMİKOZLARDA TANI

### Dermatomikozlarda olası etkenler

Tüm mantar enfeksiyonları arasında en sık görüleni yüzeysel mantar enfeksiyonlarıdır. Bu enfeksiyonlar derinin en dış tabakaları, tırnak ve kıl gibi keratinize dokuları etkilerler ve diğer enfeksiyonların aksine invazyona ve hayatı tehdit eden sistemik yayılıma neden olmazlar. Etkenler sıklıkla dermatofitler, çeşitli maya ve küf mantarlarıdır.

Dermatofitler, sadece yüzeysel enfeksiyonlara neden olan keratinofilik ve keratinolitik mantarlardır ve ılıman iklimlerde tüm mantar enfeksiyonlarının yaklaşık %75'inden sorumludurlar.

Maya mantarları fırsatçı patojenlerdir ve vücut savunma mekanizmalarında meydana gelen olumsuz değişiklikler sonucu invaziv enfeksiyonlara neden olabilirler. Bununla birlikte başta *Candida albicans* olmak üzere, çeşitli maya mantarları cilt, tırnak ve mukozalardaki yüzeysel enfeksiyonlardan da izole edilebilirler. Ciltte kommensal olarak bulunan *Malassezia furfur* lipofilik bir maya mantarıdır ve derinin sadece stratum corneum katmanını tutan 'tinea versicolor'a neden olabilir. Piedra; saç, sakal, bıyık, koltuk altı ya da kasık kıllarını tutan yüzeysel nodüler bir mantar enfeksiyonudur. Koyu renkli nodüller siyah piedra adını alır ve etken *Piedra hortae'dir*. Açık renkli nodüller ise beyaz piedra adını alır ve etken *Trichosporon beigellii* ve *Trichosporon* cinsinde yer alan diğer maya mantarlarıdır.

Dermatofitler dışındaki küf mantarları doğada yaygın bulunurlar ve yüzeysel enfeksiyon etkeni olarak izole edilmeleri son derece nadirdir.

Dermatomikoz tanısı için alınacak örnekler ve olası etken mantarlar **Tablo 7'** de verilmiştir.

**Tablo 7.** Dermatomikozlarda tanı amacıyla alınan örneklerde olası etkenler

Örnek türü	Olası etkenler
Saç, deri ve tırnak kazıntı örnekleri	<b>Dermatofitler*</b> : <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Trichophyton</i> spp, <i>Microsporum</i> spp <b>Maya ve maya benzerleri</b> : <i>Candida</i> spp, <i>Malassezia</i> spp, <i>Trichosporon</i> spp
Doku Biyopsi Aspirat	<b>Maya mantarları</b> : <i>Candida</i> spp, <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Trichosporon</i> spp, <i>Geotrichum</i> spp, <i>Malassezia</i> spp, diğer mayalar <b>Küf mantarları</b> : <i>Aspergillus</i> spp, <i>Fusarium</i> spp, <i>Zygomycetes</i> <b>Esmer (Dematisiyöz) mantarlar</b> : <i>Scedosporium</i> , <i>Pseudallescheria</i> spp, <i>Exophiala</i> spp, <i>Cladosporium</i> spp, <i>Phialophora</i> spp, <i>Alternaria</i> spp, <i>Bipolaris</i> spp <b>Dimorfik mantarlar</b> : <i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Blastomyces dermatitidis</i> , <i>Coccidioides immitis</i> , <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>

\*Dermatofitlerin taksonomisi yakın geçmişte güncellenmiş, bilinen üç dermatofit cinsine *Arthroderma*, *Paraphyton*, *Lophophyton* ve *Nannizzia* cinsleri eklenmiştir. Paralel olarak bazı adlandırmalar da değişmiştir (örn., *Microsporum gypseum* artık yeni taksonomiye göre *Nannizzia gypsea'dir*). Yeni cins/türlerin tanısı ancak moleküler testler ile konabildiği için pratikte, rutin tanıda hâlâ yaygın olarak eski sınıflandırma kullanılmaktadır. Tabloda da bu bilgi çerçevesinde sadece klasik dermatofitlere yer verilmiştir.

## Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Direkt mikroskopik inceleme ve kültür için yetecek miktarda örnek alınmalıdır. Örneklerin alınması, yüzeysel ve kutanöz mantar enfeksiyonlarının tanısında kritik bir evredir. Doğru mikolojik tanı, ancak uygun şekilde alınmış klinik örneklerle mümkündür. Kontaminasyonu önleyebilmek amacıyla steril malzemeler kullanılmalı ve aseptik yöntemler uygulanmalıdır. Ayrıca hastanın adı, yaşı, cinsiyeti, etnik kökeni gibi standart bilgilerin yanı sıra, yakın zamanda deniz aşırı seyahat öyküsü, hayvan teması ya da bazı spor aktivitelerine katılım gibi bilgiler de tanıda önemli olabilir.

**Saç ve saçlı deri örneklerinin** alınması sırasında, tercihen Wood lambası altında, tüm saçlı deri incelenerek enfekte alan tespit edilir, en az 10 saç kökü ve varsa kabuklar penset yardımıyla çekilerek toplanır. İşlem öncesi cilt antisepsisi gerekmez. Steril bir diş fırçası ya da küçük bir tarakla elde edilecek saçlı deri kazıntı örneği de kültür için iyi bir materyaldir. Favus varlığında ise saç folikülü üzerindeki skutulom kültür ve direkt mikroskopi için uygundur. Piedrada nodüllü birkaç saç teli kesilerek alınır.

**Deri örneklerinin** alınmasında, bakteri kontaminasyonunu önlemek için işlem öncesi enfekte cilt %70 alkol ile dezenfekte edilir ve aktif enfeksiyonun bulunduğu, lezyonun sınır bölgesinden bisturi, lam ya da bir dermal küret yardımıyla kazınarak örnek alınır. Veziküler lezyonlarda vezikül tepesinin steril bir makasla kesilerek alınması önerilmektedir. Vezikül sıvısı ise kültür ve mikroskopi için uygun bir örnek değildir.

**Enfekte tırnaklardan örnek** alma yöntemi onikomikozun klinik tipine göre farklılık gösterebilir. Önce kısaca tanımlamak gerekirse, onikomikoz, en sık (>%50) görülen tırnak hastalığıdır ve dermatofitler (*tinea unguium*), küf mantarları ve mayalar tarafından oluşturulmuş tırnak enfeksiyonlarını içerir. Onikomikozlar klinik olarak tırnakları etkiledikleri bölgelere göre distal ve lateral subungual onikomikoz, yüzeysel beyaz onikomikoz, proksimal subungual onikomikoz, endonyx onikomikoz ve total distrofik onikomikoz olarak sınıflandırılmaktadır. Onikomikozda genel bir kural olarak, örnekler etkilenen tırnağın en proksimalindeki lezyon bölgesinden alınmalıdır. Lezyonun aktif zonu, enfekte alanın sağlıklı doku ile birleştiği kenar bölgeleri olduğundan, örnekleme bu kısımlardan ve yeterli miktarda yapılmalıdır. Ayrıca mikolojik incelemenin etkinliğinin artırılması için lokal ya da sistemik antifungal tedavi başlanmadan önce örnek alınmalı ve işlem öncesi tırnaklar %70 alkol ile temizlenmelidir.

- Distal subungual onikomikozda tırnaklar kesildikten sonra, küçük bir küret ya da bisturi yardımıyla tırnak yatağından, buradaki sarı-beyaz kırılmalı keratin artıklarından ve olabildiğince proksimalden kazınarak alınmalıdır.
- Proksimal subungual onikomikozda tırnağın enfekte alt katmanlarına ulaşabilmek için, sağlıklı üst katmanlar soyulmalıdır. Örnekler proksimal tırnak yatağının lunulaya en yakın kısmından, lezyon içinden alınmalıdır.
- Yüzeysel beyaz onikomikozda, enfekte materyal tırnak plağının yüzeyindeki beyaz alanlardan kazınarak alınmalıdır. Ancak, kontaminasyonu önlemek amacıyla örnekleme öncesinde tırnağın alkolle temizlenmesi önemlidir.



**Canlı mantar hifleri sadece tırnak yatağı yakınından alınan örneklerde bulunur. Bu nedenle tırnak plağından alınan örnekler distal subungual onikomikoz tanısı için uygun değildir!**

Örnekler alınır alınmaz hasta başında uygun besiyerlerine inokülasyonu yapılmalıdır. Ya da temiz kuru bir kâğıt zarf içinde (kuru haldeki deri kazıntısı, saç ve tırnak örnekleri için) veya temiz iki lam arasında bantlanarak (özellikle *tinea pedis*te parmak aralarından alınan nemli/ıslak örnekler için), özel lam taşıma kabı içinde ve mümkün olduğunca kısa sürede laboratuvara ulaştırılmalıdır.

Tüpler, nemi tutarak kontaminan bakterilerin aşırı üremesine neden olacağından, plastik Petri kapları ise küçük kırpıntıların duvarlarına yapışmasına neden olacağından dolayı dermatolojik örneklerin alınmasında ve taşınmasında önerilmezler.

Örnekler 2 saat içinde işleme alınamayacaksa oda sıcaklığında bekletilmelidir. Kuru haldeki deri, saç ve tırnak örneklerinde bulunan dermatofitler, oda sıcaklığında günlerce canlılıklarını kaybetmeden kalabilirler. Yine de laboratuvarında işleme almak için bekleme süresi 4 saati aşmamalıdır.

Dermatomikoz tanısı için örneklerin alınması, taşınması, kabul ve ret ölçütleri **Tablo 8**'de sunulmaktadır.

**Tablo 8.** Dermatomikoz tanısı için örneklerin alınması, taşınması, kabul / ret ölçütleri

Örnek türü	Örneğin alınmasına ilişkin özellikler	Etken*	Taşınma özellikleri	Özel durumlar
Deri	Bakteri kontaminasyonunu önlemek için işlem öncesi cilt %70 alkol ile dezenfekte edilir. Ardından, enfeksiyonun aktif olduğu <b>lezyon sınırı bölgesinden</b> bisturi, lam ya da bir demal küret yardımıyla kazanarak örnek alınır.	<i>Trichophyton</i> spp, <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporum</i> spp, <i>Candida</i> spp, <i>Malassezia</i> spp, <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Hortaea werneckii</i>	Temiz, sağlam, koyu renkli bir kâğıt üzerine alınıp hasta başında ekim yapılması ya da temiz, kuru bir zarf içinde, kısa sürede ( $\leq 2$ sa, OS) laboratuvara ulaştırılması en uygun olanıdır. Ayrıca temiz iki lam arasında bantlanarak veya lam taşıma kabına konularak da gönderilebilir.	Çok inflamatuvar ya da akıntılı lezyonlarda kazıntı alındıktan sonra sürüntü örneği de eklenmelidir. Folikülit varlığında bir penset yardımıyla kıllar çekilerek toplanmalıdır. Çocuk hastalar ve hassas bölgeler için vinil bant ile cildi soyma şeklinde örnek alınması önerilmekle birlikte, kültür için klasik örnekleme yöntemleri zorunludur.
Saç ve saçlı deri	Tercihen Wood lambası altında, tüm saçlı deri incelenir, enfekte alan tespit edilir, en az 10 saç kökü ve varsa kabuklar penset yardımıyla çekilerek toplanır. Steril diş fırçası/küçük tarak ile alınacak <b>saçlı deri kazıntı</b> örneği kültür için iyi bir materyaldir. Piedrada nodüllü birkaç <b>saç teli</b> kesilerek alınır.	<i>Trichophyton</i> spp, <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporum</i> spp, <i>Candida</i> spp, <i>Trichosporon</i> spp, <i>Piedraia hortae</i>	Hasta başında ekim yapılması ya da temiz, kuru bir zarf içinde, kısa sürede ( $\leq 2$ sa, OS) laboratuvara ulaştırılması en uygun olanıdır. Ayrıca temiz iki lam arasında bantlanarak veya lam taşıma kabına konularak da gönderilebilir.	Büyük lezyonlarda örnek alma için lezyonun kenar kısımları tercih edilmelidir. İrini enfeksiyonlarda sürüntü örnekleri de eklenmelidir. Asemptomatik taşıyıcıların saptanmasında nemlendirilmiş steril bir eküvyon ya da diş fırçası ile tüm saçlı deri ya da saçlar silinerek örnek alınabilir.
Tırnak	Bakteri kontaminasyonunu önlemek için işlem öncesi tırnak %70 alkolle temizlenmelidir. <b>Distal subungual</b> onikomikozda tırnak kesildikten sonra, steril küçük bir küret ya da bisturi yardımıyla tırnak yatağındaki ve olabildiğince proksimalden sarı-beyaz kırılmalı keratin artıkları kazanarak alınır. <b>Proksimal subungual</b> onikomikozda tırnağın sağlıklı üst katmanları soyulup, proksimal tırnak yatağının lunula ya en yakın kısmından, lezyon içinden örnek alınır. <b>Yüzeysel beyaz</b> onikomikozda, enfekte materyal tırnak plağının yüzeyindeki beyaz alanlardan kazanarak alınmalıdır.	<i>Trichophyton</i> spp, <i>Microsporum</i> spp, <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Aspergillus</i> spp, <i>Fusarium</i> spp, <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Syctalidium dimidiatum</i> , <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> <i>Acremonium</i> spp, <i>Candida</i> spp	Temiz, sağlam, koyu renkli bir kâğıt üzerine alınıp, hasta başında ekim yapılması ya da temiz, kuru bir zarf içinde, kısa sürede ( $\leq 2$ sa, OS) laboratuvara ulaştırılması en uygun olanıdır. Ayrıca temiz iki lam arasında bantlanarak veya lam taşıma kabına konularak da gönderilebilir.	

Kısaltmalar – sa, saat; OS, oda sıcaklığında

\* Tabloda dermatofitlere önceki taksonomiye göre yer verilmiştir (ayrıca bkz. **Tablo 7**'nin alt açıklaması)

## Örneklerin işlenmesi ve iş akışı

### Mikroskopik inceleme

Örnekleme kalitesine, mikrobiyoloğun deneyim ve becerisine bağlı olarak duyarlılığı değişmekle birlikte, keratinize dokuların mantar enfeksiyonlarında en kolay, en hızlı ve en pratik inceleme yöntemi direkt mikroskopik incelemedir. Mikroskopik incelemede kullanılacak örneklerin ince olması, lam ile lamel arasında oluşabilecek hava kabarcıklarının önlenmesi açısından önemlidir. Bu nedenle inceleme öncesi iri deri ve tırnak parçaları küçük parçalar halinde kıyılmalı ya da özellikle iri tırnak paçaları steril kâğıt arasında ağır bir cisimle dövülerek ezilmelidir. Piedrada saç telleri, özellikle kıl gövdelerini kısmen ya da tamamen saran nodüller seçilmelidir.

Direkt mikroskopik incelemede doku örneklerinin çözünüp ayrışması ve doku içindeki mantar elemanlarının görülebilir hale getirilmesi amacıyla yaygın olarak potasyum hidroksit (KOH) ya da sodyum hidroksit (NaOH) kullanılmaktadır. Hidroksit solüsyonu, dokuların keratin dâhil proteinli yapılarını çözer ve mantar hücrelerinin görünür olmasını sağlar.

Temiz bir lam üzerinde, 1-2 damla KOH ya da NaOH'e incelenecek örnek eklenir, üzeri lamel ile kapatılıp oda ısısında 20-30 dk ya da 37°C inkübatörde 5-10 dk bekletilerek dokuların tamamen ayrışması sağlanmalıdır. Bunun yerine hazırlanan preparat birkaç kez alevden geçirilerek de ısıtılabilir (kaynatılmamalıdır). Sıcaklık, hidroksitin etkisini arttıracaktır. Preparatın ısıtılması ya da inkübasyonu yerine KOH içine dimetil sülfoksit (DMSO) eklenmesi tercih edilebilir. KOH preparatları kalıcı değildir ve reaktif sonunda mantarları da yok eder. Preparata az miktarda gliserol eklenmesi onu birkaç gün koruyacaktır. Ayrıca az sayıdaki mantar elemanlarının görülebilirliğini, dolayısıyla testin duyarlılığını arttırmak amacıyla, mantar hücre duvarı kitinine bağlanan ve UV ışık altında floresans veren kalkoflor beyazı (Calcofluor white) ya da Kongo kırmızısı gibi (Congo red) boyalar da kullanılabilir.

- KOH (veya NaOH) solüsyonu: %10-30 (w/v) distile su içinde (deri örneklerinde %10-15'lik, tırnak örneklerinde %25-30'luk)
- KOH + gliserol: %20'lik (v/v) gliserol solüsyonu içinde %10-30 (w/v) KOH olacak şekilde
- KOH + DMSO: distile su ile hazırlanmış %40'lık (v/v) DMSO solüsyonu içinde %20 (w/v) KOH olacak şekilde
- KOH + kalkoflor beyazı: %0.1'lik (w/v) kalkoflor beyazı distile su içinde ya da zıt boya olarak %0.05'lik Evans mavisi ile birlikte hazırlanmalıdır. Preparattaki KOH üzerine eşit miktarda kalkoflor beyazı eklenerek önce küçük büyütme ile incelenmeli ve büyük büyütme ile doğrulanmalıdır. Gerekirse %20-40 KOH ile %0.1 kalkoflor beyazı eşit oranda karıştırılarak günlük çalışma solüsyonu da hazırlanabilir.

### Kültür

Kültür, direkt mikroskopik incelemeyi tamamlayan değerli bir tanı yöntemidir. Enfeksiyon etkeninin cins ve tür düzeyinde tanımlanması ve tedavi ya da profilaksinin doğru şekilde yönetilmesi açısından zorunludur.

Saç örnekleri, deri ve tırnak kazıntıları bakteri ve saprofit mantar sporları da içeriyor olabilirler ve bunlar yavaş üreyen dermatofitlerin üremelerini maskeleyebilirler. Bu nedenle kültürler, bakteri üremesini engellemek için antibiyotik (0.05 g/L kloramfenikol ve/veya gentamisin), hızlı üreyen maya ya da dermatofit-dışı küf kontaminasyonunu engellemek için de sikloheksimit (0.5 g/L) eklenmiş SDA besiyerine ekilmelidir. SDA besiyeri olarak %4 glikozlu orijinal formu ya da %2 glikozlu Emmons modifikasyonu kullanılabilir. Koloni renk ve morfolojilerinin tanısına yardımcı olmak için ek olarak PDA besiyerine de ekim yapılabilir.



Enfekte saç telleri steril bir bisturi ya da makasla yaklaşık 1 mm'lik parçalara ayrılarak besiyeri üzerine yerleştirilmelidir. Deri ve tırnak örnekleri de steril bir bisturi ya da makasla küçük parçalara ayrılarak steril bir penset yardımıyla besiyerine yerleştirilmeli ve besiyeri içine doğru üzerlerine hafifçe bastırılmalıdır. Her bir Petri plağı ya da tüp besiyerine 5-15 deri/tırnak parçasının ekilmiş olması sağlanmalıdır. KOH ile muamele görmüş örnekler kültür için kullanılmamalıdır.

Kültürler 25-30°C'de en az 4 hafta süreyle inkübasyona bırakılmalı ve ilk hafta her gün, sonraki haftalarda ise haftada en az iki kez üreme açısından değerlendirilmelidir.

Tinea versicolor tanısı için rutin kültür gerekmez. Ancak, atipik mikroskobik bulgular varlığında ya da araştırma çalışmaları için tam tanımlama gerektiğinde kültür yapılmalıdır. Bununla birlikte derinin normal florasında da bulunabilmesi nedeniyle, *Malassezia*'nın kültürde üretilmesi her zaman enfeksiyonu göstermeyebilir. *Malassezia* cinsinde *M. pachydermatis* dışındaki türler, üreyebilmek için eksojen lipitlere ihtiyaç duymaları nedeniyle, kloramfenikol ilaveli SDA besiyeri yüzeyinin steril zeytin yağı ile kaplanması gerekir. Genellikle makroskopik ve mikroskobik inceleme bulguları ile piedra tanısı yapılabilmekle birlikte, etkenin kesin tanımlanması için kloramfenikol ilaveli SDA besiyerinde kültür önerilir.

Farklı klinik örneklerin mikroskobik inceleme ve kültür adımları **Tablo 9'**da özetlenmiştir.

**Tablo 9.** Dermatomikoz tanısında alınan örneklerin işlenmesi

Klinik durum	Mikroskobik inceleme	Standart besiyeri	Kültür				Olası etkenler*	Değerlendirme
			İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı		
			Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre			
Piedra	%10-20 KOH#	SDA	25-30°C <sup>¶</sup>	Aerobik <sup>¶</sup>	4 hafta <sup>¶</sup>	İlk hafta her gün, sonra haftada en az 2 kez <sup>¶</sup>	<i>Piedra hortae</i> , <i>Trichosporon</i> spp	Kolonilerin makroskopik ve mikroskobik özellikleri değerlendirilmeli
Tinea versicolor	%10 KOH#	SDA (yüzeyi zeytinyağı ile kaplanmış) ya da modifiye Dixon agar					<i>Malassezia</i> spp	Direkt mikroskopide septumlu, kısa, bazen dallanan hiflerin yanında tek hücreli yuvarlak ya da oval tomurcuklanan maya hücreleri; 'spagetti ve köfte' görünümü
Tinea nigra	%10 KOH#	SDA					<i>Hortaea werneckii</i>	Koyu yeşil-siyah renkli, başlangıçta maya şeklinde, yaşlandıkça belirgin tüylü koloniler
Dermatofitoz (ringworm)	%10-30 KOH#	SDA (kloramfenikol ve/veya gentamisin, sikloheksimit ilaveli)					<i>Trichophyton</i> spp, <i>E. floccosum</i> , <i>Microsporum</i> spp	Koloni morfolojisi, üreme hızı, üreme sıcaklığı, mikroskobik morfoloji (laktofenol pamuk mavis ile selofan bant preparatı, lam kültürü)
Dermatomikoz	%10-30 KOH#	SDA (sikloheksimit içermeyen, antibiyotik ilaveli)					<i>Aspergillus</i> spp, <i>Fusarium</i> spp, <i>S. brevicaulis</i> , <i>S. dimidiatum</i> , <i>Acremonium</i> spp, <i>Candida</i> spp, diğer mayalar	Koloni morfolojisi, üreme hızı, üreme sıcaklığı, mikroskopik morfoloji (laktofenol pamuk mavis ile selofan bant preparatı, lam kültürü)

Kısaltmalar – KOH, potasyum hidroksit; SDA, Sabouraud dekstroz agar

\* Tabloda dermatofitlere önceki taksonomiye göre yer verilmiştir (ayrıca bkz. **Tablo 7'**nin alt açıklaması)

# KOH (ya da NaOH) koroziv bir kimyasaldır; bu bilgi laboratuvar çalışması sırasında akıldta tutulmalıdır.

¶İnkübasyon şartları (sıcaklık, ortam, süre) tüm örnekler için burada belirtildiği gibi ve aynıdır.

## Moleküler testler

Geleneksel yöntemlerle tanı uzun zaman aldığı için yüzeysel mantar enfeksiyonlarında tedaviyi geciktirmek gibi bir dezavantaja sahiptirler. Klinik örnekteki mantar DNA'sını saptayan yöntemler geleneksel yöntemlere kıyasla daha hızlı ve daha duyarlı sonuçlar sağlayabilirler. Ancak moleküler yöntemler de özel ekip, pahalı cihaz ve kitler gerektirirler; yüzeysel klinik örnekler bol kontaminant içerebileceğinden dolayı, gerçek etkenle kontaminantı ayırmada yetersiz kalabilirler. Daha da ilerisi, klinik örnekte mantar DNA'sını göstermeye yönelik yapılmış çok sayıda çalışma olsa da yüzeysel mikoz etkenlerinin direkt saptanmasında standardize edilmiş ve rutin kullanıma girmiş bir moleküler tanı yöntemi de henüz bulunmamaktadır.

## Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Dermatomikoz tanısı için incelenen örneklerin mikroskopi ve kültür sonuçlarının raporlanması hususları aşağıda özetlenmiştir.



### Dermatomikoz tanısı için incelenen örneklerin inceleme sonuçlarının raporlanması

Direk mikroskopik inceleme	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bir etkenin kesin tanısı tek başına direkt mikroskopik incelemedeki morfolojik özelliklere dayanarak konulamaz. Bunun tek istisnası <i>Malassezia furfur</i>'dur; enfekte bölgeden alınan deri kazıntı örneklerinin mikroskopik incelemesinde bölmeli, kısa, bazen dallanan hiflerin yanında tek hücreli yuvarlak ya da oval tomurcuklanan maya hücrelerinin görülmesi (spagetti ve köfte) tinea versicolor açısından anlamlı kabul edilmelidir.</li> <li>Dermatofitlerin kültürde yavaş üremeleri nedeniyle, dermatofitlerde genellikle direkt mikroskopik inceleme sonucuna göre tedaviye başlanmaktadır. Özellikle saç ve deri örneklerindeki dermatofitlerle uyumlu mikroskopik bulgunun varlığı, klinik ile birlikte ön tanıyı koydurur. Bu nedenle örnek laboratuvara ulaştıktan sonra <b>en geç 2 iş günü</b> içinde mikroskopik inceleme raporu gönderilmiş olmalıdır.</li> <li>Görülen mantar hücresi miktarının bildirilmesi gerekmez, ancak miçel ya da artrokonidyum varlığı ya da yokluğu raporlanmalıdır. Ayrıca saç/saçlı deri enfeksiyonlarında endotriks ya da ektotriks tutulum bilgisinin verilmesi etkenin tahminine ve tedavinin doğru yönlendirilmesine yardımcı olabilir. Klinik önemi tam olarak bilinmese de cilt ve tırnak örneklerinde maya ve psödohipif varlığı raporlanmalıdır.</li> </ul>
Kültür	<ul style="list-style-type: none"> <li>Lezyonlu deri, saç ve tırnak örneklerinin kültüründe bir dermatofit türünün üremesi, direkt mikroskopik incelemede mantar elemanlarının görülüp görülmediğine bakılmaksızın tanı koydurucu olarak kabul edilmelidir. Ancak <i>Microsporum cookei</i> ve <i>Trichophyton terrestre</i> üremesi, aksi kanıtlanmazsa kontaminant olarak değerlendirilmeli ve raporlamada "normalde patojen değil" yorumu eklenmelidir.</li> <li>Deri kazıntı örneklerinden dermatofitler dışında izole edilebilecek iki küf mantarı, <i>Scytalidium dimidiatum</i> ve <i>S. hyalinum</i> üremesi durumunda bu organizmalar etken olarak kabul edilebilir. <i>Scytalidium</i> türleri tırnak ya da deri kazıntı örneklerinden izole edildiğinde tür adıyla raporlama yapılır. Cins ve tür adı yazılarak "<i>Scytalidium dimidiatum/hyalinum</i> sıklıkla tırnaklarda, ayak tabanı ve avuç içlerinde dermatofitoz benzeri lezyonlara neden olur. <i>In-vitro</i> testlerle duyarlı bulunsa bile genellikle <i>in-vivo</i> antifungal ilaçlara dirençlidir" şeklinde not eklenir.</li> <li>Nadiren, özellikle bağışık yetmezlikli hastalarda, yüzeysel cilt tabakası dermatofitler ve <i>Scytalidium</i> spp dışındaki küf mantarları ile kolonize olabilir. Bu olgularda, farklı zamanlarda ardışık olarak alınmış örneklerin kültürlerinde aynı mikroorganizmanın tekrar üremesi yanı sıra direkt mikroskopik incelemede üreyen mantarla uyumlu bulguların görüldüğü durumda etken oldukları doğrulanabilir.</li> <li>Tırnak örneklerinden <i>Scytalidium</i> spp izole edildiğinde yukarıdaki gibi raporlanabilir. <i>Scytalidium</i> dışındaki küf mantarları, beraberinde bir dermatofit olmaksızın, nadiren onikomikoza neden olurlar. Küflerin onikomikoz etkeni olduklarının bilimsel olarak kanıtlanması, enfekte tırnaktan birer haftalık aralarla alınmış üç farklı örneğin direkt mikroskopik incelemelerinde küf hiflerinin görülmesi ve kültürlerinde aynı küfün izolasyonu ile mümkündür.</li> </ul>

## Kaynaklar

1. Baert F, Stubbe D, D'hooge E, Packeu A, Hendrickx M. Updating the taxonomy of dermatophytes of the BCCM/IHEM collection according to the new standard: a phylogenetic approach. *Mycopathologia* 2020; 185(2): 161-168 erişim t. 19/06/2024 <https://link.springer.com/article/10.1007/s11046-019-00338-7>
2. Bonifaz A, Gomez-Daza F, Paredes V, Ponce RM. Tinea versicolor, tinea nigra, white piedra, and black piedra. *Clin Dermatol* 2010; 28(2):140-5.
3. Gnat S, Nowakiewicz A, Zięba P. Taxonomy of dermatophytes – The classification systems may change but the identification problems remain the same. *Advance Microbiol* 2019; 58 (1):49-58. erişim t. 19/06/2024 <https://sciencedirect.com/article/10.21307/PM-2019.58.1.049>
4. Gupta AK, Drummond-Main C, Cooper EA, Brintnell W, Piraccini BM, Tosti A. Systematic review of nondermatophyte mold onychomycosis: diagnosis, clinical types, epidemiology and treatment. *J Am Acad Dermatol* 2012; 66(3):494-502.
5. Gupta AK, Simpson FC. Diagnosing onychomycosis. *Clin Dermatol* 2013; 31(5):540-3.
6. Hay RJ, Jones RM. New molecular tools in the diagnosis of superficial fungal infections. *Clin Dermatol* 2010; 28(2):190-6.
7. Kevin C. Hazen KC, Howell SA (section eds). Mycology and antifungal susceptibility testing. In: Garcia LS, Isenberg HD (eds). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2<sup>nd</sup> ed. update (2007). ASM Press, Washington DC. 2007: 8.
8. Lindsley MD, Snyder JW, Atlas RM, Larocco MT. Reagents, stains, and media: Mycology. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 11<sup>th</sup> ed. ASM Press, Washington DC. 2015; 1955-64
9. McGowan KL. Specimen collection, transport, and processing: Mycology. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 11<sup>th</sup> ed. ASM Press, Washington, DC. 2015; 1944-54
10. Pierard GE, Quatresooz P, Arrese JE. Spotlight on nail histomycology. *Dermatol Clin* 2006; 24(3):371-4.
11. Robert R, Pihet M. Conventional methods for the diagnosis of dermatophytosis. *Mycopathologia* 2008; 166(5-6): 295-306.
12. UK Standards for Microbiology Investigations. Investigation of dermatological specimens for superficial mycoses. Bacteriology, SMI B39, Issue no 3.1, Dec 2016; 1-26 erişim t. 20/01/2024 [https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a80b145e5274a2e8ab519f3/B\\_39i3.1.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a80b145e5274a2e8ab519f3/B_39i3.1.pdf)
13. Welsh O, Vera-Cabrera L, Welsh E. Onychomycosis. *Clin Dermatol* 2010; 28(2):151-9.

*Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır.*

## BÖLÜM 6

### DERİ ŞARBONU ve LEPRADA LABORATUVAR İNCELEMELERİ

Şarbon ve lepra ülkemizde bildiri zorunlu hastalıklardır. Bu enfeksiyonların görülme sıklığı günümüzde çok düşük olsa da laboratuvarların gelen şüpheli örnekleri -en azından ayırıcı tanı için- inceleyebilmesi ya da uygun merkezlere güvenli bir şekilde yönlendirmesi beklenir. Bu bölümde bazı temel yaklaşımlar özetlenmiştir.

#### Şarbon

Deri şarbonu; enfekte hayvan ya da hayvan ürünleriyle temas eden kişilerde çoğunlukla ellerde ve ön kolda ortaya çıkan ödemli, kaşıntılı, papüler (malign püstül) bir lezyondur. Lezyon daha sonra siyah bir kabuğa (eskar) dönüşmesiyle karakterizedir.

#### Örnek alınması, taşınması ve saklanması

Deri şarbonu tanısı için alınacak örnekler, örnek alınması sırasında dikkat edilmesi gereken durumlar, örneklerin laboratuvara iletilmesi, saklama koşulları ve özel durumlarla ilgili bilgiler **Tablo 10**'da sunulmaktadır.

**Tablo 10.** Deri şarbonunun tanısı için alınacak örnekler, alınması, taşınması, saklama koşulları

Örnek türü	Örneğin alınmasına ilişkin özellikler	Transfer özellikleri	Saklama koşulları	Özel durumlar
Vezikül sıvısı	Veziküler evrede, açılmamış vezikülden steril eküvyonla* alınır.	Eküvyon, Stuart veya Amies taşıma besiyerinin içine konur.	≤ 1 sa, OS >1 sa, +4°C'de	Uzun mesafe taşıma <24 sa, +4°C
Eskar dokusundan sızıntı, sürüntü materyali	Eskar evresinde, kabuk kaldırılmadan alttaki sızıntıdan bir Pastör pipeti yardımıyla veya eküvyonla örnek alınır.	Örnek Stuart veya Amies taşıma besiyerinin içine konur.	≤1 sa, OS >1 sa, +4°C'de	Uzun mesafe taşıma <24 sa, +4°C

Kısaltmalar – sa, saat; OS, oda sıcaklığında

\* Dacron eküvyon tercih edilmeli.

## Örneklerin işlenmesi ve iş akışı

**ÖNEMLİ NOT / GÜVENLİK!** Şarbon etkeni *Bacillus anthracis* Risk Grubu 3 mikroorganizmadır; aerosol bulaş potansiyeli yüksektir. Deri şarbonu kuşkulu klinik örneklerin preparat hazırlama ve kültür plaklarına ekim işlemleri BGD2 standardına sahip laboratuvarlarda *mutlaka* sertifikalı bir sınıf-IIA BGK içinde yapılmalıdır. Personel *mutlaka* uygun KKD giymeli, daima tüm laboratuvar güvenlik kurallarına uymalıdır (ayrıca bkz. UMS2014, Cilt 1. Şarbonun Mikrobiyolojik Tanısı. B-MT-20; ve Ulusal Laboratuvar Güvenliği Rehberi).

Tanı için alınan örneklerden öncelikle Gram boyalı preparat hazırlanarak incelenir. Preparatta Gram-pozitif, bambu kamışı görünümünde sporlu basillerin görülmesi anlamlıdır. *B. anthracis*'in vejetatif hücrede şişkinlik yapmamış (hücreyi enine genişletmemiş) santral veya subterminal yerleşimli oval sporları vardır.

Kültür için KKA besiyeri kullanılır, besiyeri aerop koşullarda 35-37°C'de 48-72 saat inkübe edilerek değerlendirilir. Üreyen bakteri tür düzeyinde tanımlanır. Mikroskopik inceleme 1-2 saat, kültür ise 2-3 gün sonunda sonuçlandırılabilir.

## Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Deri şarbonu şüphesi ile gelen örneklerin (veziküler sıvı, eskar dokusundan sürüntü materyali) inceleme sonuçlarının raporlanması ile ilgili hususlar aşağıda özetlenmiştir.



Deri şarbonu şüpheli örneklerin inceleme sonuçlarının raporlanması

Gram boyalı mikroskopik inceleme	Gram yaymada -bambu kamışı görünümünde- Gram-pozitif sporlu basiller görülmüş ise, klinisyene <b>hemen</b> " <i>Bacillus anthracis</i> morfolojisi ile uyumlu bakteriler gözlendi" şeklinde rapor edilmelidir (telefonla bildirilmelidir).
Kültür sonucunu raporlama	Kültürlerde üreme karakteristikleri, koloni morfolojileri, Gram boyama ve diğer tanımlayıcı testlerin (penisiline ve gamma fajına duyarlılık, biyokimyasal testler, sporlanma ve kapsül indüksiyon testleri) sonuçları <i>B. anthracis</i> ile uyumlu ise klinisyene " <i>Bacillus anthracis</i> üredi" şeklinde rapor edilir. Vaka, İl Sağlık Müdürlüğüne de "kesin vaka" olarak bildirilmelidir.

## Lepra

Lepra etkeni *Mycobacterium leprae*, kültürü yapılamayan bir organizma olarak kabul edilir. Lepra hastalığının tanısı geleneksel olarak oldukça tipik olan cilt lezyonları ve klinik bulgulara dayanır. Cilt lezyonlarında kaşıntı olması veya duyu varlığı klinik olarak leprayı reddettirecek bir bulgudur. Laboratuvar tanısı için lezyon(lar)dan alınan biyopsi veya nazal yayma örnekleri kullanılabilir. Lepromatöz leprada nodüller ve plaklar biyopsi için tercih edilen bölgelerdir ve çok sayıda aside-rezistan basil (ARB) ortaya çıkar. Bunun tersine, tüberküloid leprada, lezyonlarda genellikle çok az ARB bulunur veya hiç bulunmaz; bu olgularda biyopsi lezyon sınırından alınmalıdır. Keskin bir bisturi ile alınacak deri kazıntısı, altındaki dokular ve elde edilirse sıvılarından yapılacak altı-sekiz adet yaymadan aside-rezistan boyama yöntemi (Ziehl-Neelsen) ile boyama yapılmalıdır. Mikroskopik inceleme için preparat hazırlarken lepra basillerinin *M. tuberculosis*'e göre aside ve alkole daha az dirençli olduğu hatırlanmalıdır; bu nedenle asit-alkol çözeltisi yerine renk giderici olarak tercihen %10 sülfürik asit kullanılır. Alınan örnekte ARB gösterilmesi tanı için yeterlidir.

Aynı örnekten yapılan mikobakteri kültüründe üreme saptanmaması mikroskopik incelemede görülen aside-rezistan boyanmış basillerin *M. leprae* olduğunu bir kere daha doğrulayacaktır.

Sonuçlar; boyalı yayma preparatın mikroskopik incelemesinde 100× immersiyon objektifi ile değerlendirme yapılarak ve 'bakteriyolojik indeks' (BI) **Tablo 11**'e göre yorumlanarak raporlanır.

**Tablo 11.** Lepra şüpheli örneklerin boyalı yayma preparatının mikroskopik incelemesinde 100× büyütmede bakteriyolojik indeks (BI)

Alan sayısı	Görülen basil sayısı	Yorum (BI)
100	1	1+
10	1	2+
1	1	3+
1	10	4+
1	100	5+
1	1000	6+

## Kaynaklar

1. Keck G. Anthrax - *Bacillus anthracis*. In: Garcia LS, Isenberg HD (eds). Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2<sup>nd</sup> ed. update (2007). ASM Press, Washington, DC. 2007: 16.4.
2. Pfyffer GE. *Mycobacterium*: General Characteristics, Laboratory: Detection, and Staining Procedures - *Mycobacterium leprae*. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC (eds). Manual of Clinical Microbiology. 11<sup>th</sup> ed. ASM Press, Washington, DC. 2015; 540-41
3. UK Standards for Microbiology Investigations. Identification of *Bacillus* species. Bacteriology – Identification, ID 9, Issue no 3.1, Apr 2018; 1-27 erişim t. 20/01/2024 [https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5ac4e7cc40f0b60a4e1b0e7a/ID\\_9i3.1.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5ac4e7cc40f0b60a4e1b0e7a/ID_9i3.1.pdf)
4. UMS(2014). Şarbonun Mikrobiyolojik Tanısı. B-MT-20 Cilt 1, s. 378. erişim t. 20/01/2024 [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/mikrobiyoloji-referans-laboratuvarlari-ve-biyolojik-urunler-db/Dokumanlar/Rehberler/UMS\\_LabTaniRehberi\\_Cilt\\_1.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/mikrobiyoloji-referans-laboratuvarlari-ve-biyolojik-urunler-db/Dokumanlar/Rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_1.pdf)
5. UMS(2021). Ulusal Laboratuvar Güvenliği Rehberi. erişim t. 20/01/2024 [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/mikrobiyoloji-referans-laboratuvarlari-ve-biyolojik-urunler-db/Dokumanlar/Rehberler/UMS-Laboratuvar\\_Guveligi\\_Rehberi-2021\\_2\\_.\\_versiyon.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/mikrobiyoloji-referans-laboratuvarlari-ve-biyolojik-urunler-db/Dokumanlar/Rehberler/UMS-Laboratuvar_Guveligi_Rehberi-2021_2_._versiyon.pdf)
6. World Health Organization (WHO). Guide to eliminate leprosy as a public health problem. 1<sup>st</sup> ed. World Health Organization, Geneva. 2000. erişim t. 20/01/2024 <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-CPE-CEE-2000.14>
7. World Health Organization (WHO). Leprosy. Jan 2023. erişim t. 20/01/2024 <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leprosy>
8. York MK, Ruoff KL, Clarridge J III, Kathryn Bernard K. Schemes for identification of aerobic bacteria: Identification of Gram-positive bacteria. In: Garcia LS, Isenberg HD (eds). Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2<sup>nd</sup> ed. update (2007). ASM Press, Washington, DC. 2007: 3.18.1.

*Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır.*



## BÖLÜM 7

### ISIRIK YARALARI

#### Isırık yaralarının özellikleri

Günlük yaşamda hayvan ısırıkları çok sık karşılaşılan bir durumdur. Sıklık bakımından köpek ısırıkları birinci sırada yer alır, bunu kedi ısırıkları izler. Günümüzde evde hamster, kobay gibi kemiricilerin beslenmesi nedeniyle kemiricilere bağlı ısırık yaraları görülebilmektedir. Hayvan ısırıklarına göre daha az görülse de insan ısırıkları da olabilir. Isırılan kişiler genellikle yarayı kendi kendilerine tedavi etmeye çalışırlar, olguların çok azı bir sağlık kuruluşuna başvurur. Isırıklardan sonra ciddi enfeksiyon ve komplikasyonlar gelişebilir. Enfeksiyonlar çoğunlukla aerob ve anaerob mikroorganizmaların karışık bakteriyel enfeksiyonları şeklindedir. Buradaki mikroorganizmalar ısırılan hayvan veya insanın oral mikrobiyotasından kaynaklanır. Yanı sıra, ısırma sırasında kişinin kendi deri florasından veya çevreden mikroorganizmalar yaraya inoküle olabilir. Bazı hayvan veya insan ısırıkları sonrası gelişen enfeksiyonlarda olası etkenler **Tablo 12**'de verilmiştir.

Isırıklara bağlı yaralanmalar, delinme, parçalanma, laserasyon, ezilme ve kopma şeklinde olabilir. Köpekler, dokuyu ezerek ya da çenesi güçlü olanlar yırtarak veya parçalayarak ısırır. Kediler, ince, uzun sivri dişleriyle delici tarzda, kemik dokuya kadar inen derin yaralar oluşturur; bu lezyonlar köpek ısırık yaralarına göre daha ciddi seyridir, osteomyelite yol açabilir. At ve sığır gibi hayvanlar öğütücü tarzda yaralanma yaptıkları için daha fazla doku yıkımına neden olurlar. İnsan ısırıkları ezilme veya yırtılma şeklinde olabilir. Isırık yaraları içinde en ağır seyreden insan ısırığı sonrası gelişenlerdir, özellikle eldeki ısırıklarda nekrozu enfeksiyonlar gelişebilir.

Enfeksiyonun ciddiyeti, yaranın oluş şekline, lezyonun derinliğine, ısırmanın diş ve ağız yapısına ve oral mikrobiyotasına göre farklılık gösterir. Enfeksiyonun seyrinde konağa ait faktörler de önemlidir. İki yaşın altında, 50 yaşın üstündeki kişilerde, altta yatan hastalığı bulunanlarda ve bağışık yanıtı zayıf olanlarda enfeksiyon riski yüksektir. El, bilek ve ayak bölgesinde, özellikle küçük çocuklarda yüz ve saçlı deride, eklem protezine yakın yerde gerçekleşen yaralanmalarda enfeksiyon ağır seyreder. Enfeksiyon gelişen yaralardan kültür yapmak, sistemik enfeksiyonu düşündüren durumlarda ayrıca kan kültürü yapmak gerekir.

#### Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Örnekler genel görünümleri bakımından incelenmeli, yeterli miktarda olup olmadıkları, uygun şartlarda taşınıp taşınmadıkları belirlenmeli, uygun olmayan örnekler reddedilmelidir.

##### Uygun olmayan örnekler

Isırma sonrası hemen yapılacak kültürün yararı yoktur, bu nedenle ısırıktan sonraki ilk 12 saat içinde örnek alınması uygun değildir.

Ayrıca, yara yüzeyinin deri mikrobiyotası veya çevreden gelen bakterilerle kolonize olması nedeniyle, ısırık yaralarında yüzeyden eküvyonla alınan örnekler yanlış sonuç verir. Örneklerin bu şekilde alınması önerilmez.

## Uygun örnekler

Isırık yaralarının incelenmesinde **doku biyopsisi** veya **aspirasyonla** alınan örnekler tercih edilir.

Örnek almadan önce yara çevresindeki deri %70'lik alkol veya povidon iyot ile silinmeli, yara bol miktarda steril SF ile yıkanmalı, ardından nekroza uğramış dokular debride edilmeli, varsa yabancı cisimler uzaklaştırılmalıdır. Ardından, **yara tabanından** doku biyopsisi veya aspirasyon materyali alınmalıdır. Biyopsi/aspirat alınmadığı durumlarda temizlik yapıldıktan sonra yara **tabanından** eküvyonla örnek alınabilir. Örnekler anaerop taşıma besiyelerine aktarılmalı, 2 saatten daha kısa süre içinde (ideal olarak 30 dk.) laboratuvara ulaştırılmalıdır.

Her ne kadar enfeksiyonların sadece %5'inde kan kültür pozitifliği olsa da, ateş gibi sistemik enfeksiyon bulgularının varlığında, 24 saatlik zaman diliminde kültür için 2 veya 4 kez kan örneğinin alınması önerilmektedir.

**Tablo 12.** Bazı hayvan veya insan ısırıkları sonrası gelişen enfeksiyonlarda olası etkenler.

Isırık yarası	Aerop bakteriler	Anaerop bakteriler
Köpek ısırıkları	<i>Pasteurella</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Bacillus</i>	<i>Fusobacterium</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Peptostreptococcus</i>
Kedi ısırıkları	<i>Pasteurella</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Bacillus</i>	<i>Fusobacterium</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Propionibacterium</i>
At ısırıkları	<i>Actinobacillus equuli</i> , <i>Actinobacillus lignieresii</i> , <i>Actinobacillus suis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Neisseria</i> spp, <i>Pasteurella caballi</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. anginosus</i> , <i>S. mutans</i> , <i>Yersinia</i> spp	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Campylobacter ureolyticus</i> (eski adı <i>Bacteroides ureolyticus</i> ), <i>Prevotella melaninogenica</i>
Ayı ısırıkları	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Citrobacter diversus</i> , <i>Enterococcus durans</i> , <i>E. coli</i> , <i>Mycobacterium fortuitum</i> , <i>Neisseria sicca</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>Serratia fonticola</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. sanguis</i>	
Fare, kobay, hamster ısırıkları	<i>H. influenzae</i> , <i>Pasteurella</i> spp, <i>Acinetobacter anitratus</i>	<i>Streptobacillus moniliformis</i> , <i>Spirillum minus</i>
İnsan ısırıkları	<i>Acinotobacter</i> spp, <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Corynebacterium</i> spp, <i>Eikenella corrodens</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> ve diğer <i>Enterobacter</i> türleri, <i>E. coli</i> , <i>H. influenzae</i> ve diğer <i>Haemophilus</i> türleri, <i>K. pneumoniae</i> , <i>Micrococcus</i> spp, <i>N. gonorrhoeae</i> ve diğer <i>Neisseria</i> türleri, <i>Nocardia</i> spp, <i>Proteus mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>S. aureus</i> , diğer stafilokok türleri, $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ hemolitik streptokoklar	<i>Actinomyces</i> spp, <i>Arachnia propionica</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Clostridium</i> spp, <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , <i>Anaerococcus prevotti</i> , diğer anaerop Gram-pozitif koklar <i>Prevotella</i> spp, <i>Cutibacterium acnes</i> ve diğer <i>Propionibacterium</i> türleri

## Örneklerin işlenmesi ve iş akışı

Örnekler önce kötü koku, nekroz varlığı, kanlı veya pürülan görünüm bakımından incelenmeli ve gözlem not edilmelidir.

Doku parçaları steril bir havan içine alınmalı, üzerine yaklaşık 1 mL sıvı besiyeri eklenerek ezilmelidir. Homojen hale getirilen örnekten steril pipet ile 2 veya 3 damla (pürülan olanlarda 1 damla), **Tablo 13'**te belirtilen katı besiyelerine damlatılarak, bir-iki damla da tiyoglikolatlı sıvı besiyerinin içine bırakılarak ekilir. Katı besiyelerine damlatılan örnekler öze ile azaltma yöntemiyle, yayılarak ekilmelidir.

**Tablo 13.** Isırık yaralarından alınan örneklerin ekildikleri besiyerleri, kültür koşulları ve değerlendirme

Örnekler	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı	Önerilen asgari düzeyde tanımlama
		Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre		
Doku biyopsisi, aspirat	Çikolata agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	48 sa	Günlük	Tür düzeyinde
	Kanlı agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	24-48 sa	24., 48. sa	Tür düzeyinde
	Anaerop besiyeri; <i>Brucella</i> agar, KVLB agar	35-37	Anaerobik	40-48 sa	>40 sa	Cins düzeyinde
	MacConkey	35-37	Aerobik	24-48 sa	Günlük	Tür düzeyinde
	Ek besiyeri olarak, organizmanın izolasyon şansını artırmak amacıyla;					
	Tiyoglikolatlı sıvı besiyeri	35-37	Aerobik	16-24 sa	>40 sa	Üreme varsa ve diğer besiyerlerinde üreme yoksa <b>aşağıdaki</b> besiyerlerine pasaj yapılır!
	Çikolata agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	48 sa	Günlük	Tür düzeyinde
Anaerop kanlı agar	35-37	Anaerobik	40-48 sa	>40 sa	Cins düzeyinde	
Kan	Aerop ve anaerop kan kültür şişesi	35-37		Sinyal alınır alınmaz		Tür düzeyinde

Kısaltmalar – KVLB, kanamycin-vancomycin laked blood; sa, saat

Hastadan aspirasyon materyali alınmış ise, materyal taşıma besiyerinde iken iyice çalkalanarak homojen hale getirilir. Daha sonra örnekten, öze ile besiyerlerine tek düşecek şekilde azaltma yöntemiyle **ekim** yapılır. Besiyerlerine ekimi takiben, örneklerden birer damla lama sürülerek **preparat** hazırlanır.

Ekim yapılmış plaklar, uygun atmosfer ve sıcaklık koşullarında inkübe edilir (**Tablo 13**). Elde edilen kültürlerde mikroorganizmaların tanımlanması geleneksel ve modern tekniklerle yapılır.

Anaerop ortamda inkübe edilen plaklarda, fakültatif anaerop bakteriler de kolaylıkla üredikleri için, zorunlu anaeroplardan ayırt edilmesi gerekir. Bu amaçla farklı morfolojideki koloniler belirlenir, her bir koloniden kanlı ve çikolata agar plaklara paralel pasajları yapılır; kanlı agar anaerop, çikolata agar ise %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 35-37°C'de inkübe edilir. Sadece anaerop ortamda üreyen mikroorganizmalar *zorunlu anaerop* kabul edilir ve o yönden işleme alınırlar.

Saf olarak elde edilen anaerop bakteriler Gram boyanma özellikleri, kanamisin, vankomisin, kolistin antibiyotik disklerine duyarlılıkları, nitrat redüksiyonu, katalaz, üreaz ve indol oluşturma özellikleri açısından araştırılır (**Tablo 14**).

Anaerop bakterilerle çalışma pratiği olmayan laboratuvarlarda tespit edilen bu özellikler, etken anaerop bakterinin *cins*

*düzeyinde* tahmin edilmesine yardımcı olur. Ancak hastalandırıcı özellikleri ve antibiyotik duyarlılıkları farklı olan bakterilerin *tür düzeyinde* tanımlanması başarılı sonuçların alınması açısından önemlidir. Bakterilerin *tür düzeyinde* tanımlanabilmesi için biyokimyasal veya enzime dayalı ileri düzey tetkiklerin yapılması gerekir. Bu amaçla RapID-ANA, API20A, rapid ID 32 A, AnIDENT, Crystal, Sceptor veya MALDI-TOF gibi otomatize yöntemler kullanılabilir.

**Tablo 14.** Anaerop Gram-negatif bakterilerin ayırt edici özellikleri

	Safrada üreme	Van direnci	Kan direnci	Kol direnci	Katalaz aktivitesi	Nitrat redüksiyonu
<i>Bacteroides</i>	D	D	D	D	+	-
<i>Prevotella</i>	H	D	D	D/H	-	-
<i>Porphyromonas</i>	H	H	D	D	-	-
<i>Fusobacterium</i>	H/D	D	H	H	-	-
<i>Bilophila</i>	D	D	H	H	+	+

Kısaltmalar – Van, vankomisin; Kan, kanamisin; Kol, kolistin; D, dirençli; H, hassas

## Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Isırık yarası örneklerinin mikroskopi ve kültür sonuçlarının raporlanması ile ilgili hususlar aşağıda özetlenmiştir.



**Pasteurella türleri, morfoloji benzerliğinden dolayı Neisseria spp veya Haemophilus influenzae ile karıştırılabilir!**



### Isırık yara örneklerinin inceleme sonuçlarının raporlanması

Gram boyalı mikroskopik inceleme	<p>Gram yaymanın mikroskopik incelemesi ve bulguların <b>hemen</b> klinisyene bildirilmesi önemlidir.</p> <p>Yaymada PNL'lerin görülmesi inflamasyon varlığını düşündürür. Yassı epitel hücrelerinin görülmesi ise örneğin yüzeyden alındığını ve kültür için uygun <b>olmadığını</b> gösterir. Mikroorganizmaların görülmesi ve morfolojileri tanımlamada önemli yol göstericidir.</p> <p>Her zaman mikroskop görüntüsü ile kültür arasında uyum olmayabilir. Örneğin, <i>Clostridium</i> türlerinin neden olduğu enfeksiyonlarda, salgıladıkları toksinlere bağlı olarak lökositlerde yıkım gelişebilir.</p>
Kültür	<p>Isırık yara çeşidine göre önem arz eden birtakım mikroorganizmalar mevcuttur. Bu mikroorganizmalar <b>yüksek virülans</b> özelliklerine sahiptir; sistemik enfeksiyonlara yol açabilir, santral sinir sistemi ve akciğer gibi diğer organlara yayılabilir, sepsise ve kanama bozukluklarıyla seyreden ölümcül hastalıklara neden olabilirler. <b>Ürediğinde koloni sayısı veya mikroskop görüntüsü dikkate alınmadan bildirilmesi gerekir.</b> Bu organizmalar;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• İnsan ısırık yaralarında <i>Eikenella corrodens</i></li> <li>• Köpek ısırık yaralarında; <i>Pasteurella canis</i>, <i>Capnocytophaga canimorsus</i></li> <li>• Kedi ısırık yaralarında; <i>P. multocida</i> subsp <i>multocida</i> ve subsp <i>septica</i>, <i>C. canimorsus</i></li> <li>• Sıçan vb. kemirici ısırıklarında; <i>Streptobacillus moniliformis</i> ve <i>Spirillum minor</i></li> </ul> <p>Genel olarak yara kültürlerinde <b>koloni sayısı az olsa bile</b> tanımlanması gereken organizmalar şunlardır:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>H. influenzae</i>, <i>N. gonorrhoeae</i>, <i>N. meningitidis</i>, <i>Brucella</i> spp, <i>Listeria</i> spp, <i>C. ulcerans</i>, <i>S. aureus</i>, Grup A, Grup B beta-hemolitik streptokoklar, <i>B. cereus</i>, <i>Arcanobacterium</i>, <i>Kingella kingae</i>, <i>Chromobacterium</i>, <i>P. aeruginosa</i>, <i>Vibrio</i> spp, <i>Actinomyces</i>, <i>Yersinia</i> türleri.</li> </ul> <p>Mikroskop görüntüsünde çok sayıda PNL ve bakteri bulunan, saf şekilde baskın üreyen <i>S. aureus</i>'a, Gram-negatif basillere ve enterokoklara ADT yapılmalıdır.</p> <p>Kültürde karışık üreme varsa, bu bakterilerden biri baskın şekilde ürememiş ise minimal tanımlama testleri uygulanmalıdır. Klinisyenin talebi doğrultusunda daha fazla tanımlayıcı testlere gidilebilir.</p> <p>Anaerob bakterilerin bildirilmesi önemlidir, ısırık enfeksiyonlarının çoğunda etken olarak bulunurlar. En azından <b>Tablo 14</b>'te verilen basit testler uygulanarak minimal düzeyde tanımlanmaları ve <i>Fusobacterium</i>, <i>Bacteroides</i> (özellikle <i>B. tectum</i>), <i>Porphyromonas</i>, <i>Prevotella</i> türleri, <i>Cutibacterium acnes</i> ve Gram-pozitif anaerob koklar üredi şeklinde bildirilmeleri gerekir.</p> <p>Rutin laboratuvarlarda anaerobik bakterilere ADT uygulanmaz. Ancak bakterilerin β-laktamaz üretip üretmediklerini belirlemenin tedavi seçimine faydası büyüktür. Hayvan ısırık yaralarından izole edilen anaerob bakterilerin β-laktamaz üretme oranı, insan ısırıklarından üretilen bakterilere göre daha düşüktür.</p>

## Raporlama süresi

Raporlama süresi etkenin tanımlanma süresine bağlıdır. Aerop organizmaların tanımlanması 24 ile 72 saat arasında değişir. Ancak anaerob bakterilerin tanımlanması 7 güne kadar uzayabilir. Anaerob kültürlerden üremenin olmadığını söyleyebilmek için plakların 10 gün inkübe edilmiş olması gerekir.

Gram boyama sonuçları mümkün olan en kısa sürede raporlanmalıdır. Kritik bölgelerden alınan örneklerin **1 saat içerisinde** raporlanması idealdir. Acil bildirilmesi gereken mikroorganizma üremesi varlığında telefon ve elektronik raporlama ile hemen bilgi verilmelidir.

## Kaynaklar

1. Abrahamian FM, Goldstein EJC. Microbiology of animal bite wound infections. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24(2):231-46. erişim t: 20/01/2024 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3122494/>
2. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 Update by the IDSA and the ASM. *Clin Infect Dis* 2018; 67(6):e58–e63. erişim t: 20/01/2024 <https://academic.oup.com/cid/article/67/6/e1/5046039>
3. Byrd L. Examination of anaerobic culture plates for anaerobic bacteria. In: Isenberg HD, Garcia LS (eds), *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3<sup>rd</sup> ed. ASM Press, Washington, DC. 2010: 4.4.
4. Griego RD, Rosen T, Orenge IF, Wolf JE. Dog, cat and human bites: a review. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33(6):1019-29.
5. Stefanopoulos P, Karabouta Z, Bisbinas I, Georgiannos D, Karabouta I. Animal and human bites: evaluation and management. *Acta Orthop Belg* 2004; 70(1):1-10.
6. Talan DA, Abrahamian FM, Moran GJ, Citron DM, Tan JO, Goldstein EJ. Emergency Medicine Human Bite Infection Study Group. Clinical presentation and bacteriologic analysis of infected human bites in patients presenting to emergency departments. *Clin Infect Dis* 2003; 37(11):1481-9.
7. Talan DA, Citron DM, Abrahamian FM, Moran GJ, Goldstein EJ. Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. Emergency Medicine Animal Bite Infection Study Group. *N Engl J Med* 1999; 340(2):85-92.

*Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır.*

# BÖLÜM 8

## DIYABETİK AYAK ve DEKÜBİTÜS ÜLSERLERİ

### Diyabetik ayak

Diyabet (diabetes mellitus) kan şekeri yüksekliği ile seyreden bir metabolizma hastalığıdır. İnsülin salgılanmasında veya insülinin etkisinde ya da ikisinde birden yetersizlik olması sonucu, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluklara bağlı gelişir. Diyabetin en ciddi ve ağır komplikasyonlarından birisi ayaklarda gelişen ülserlerdir. Periferik nöropati ve vasküler hastalıklar diyabetik ayak ülserleri (DAÜ) oluşumuna zemin hazırlar. Doku perfüzyonundaki azalmanın yanı sıra nötrofil fonksiyonlarındaki bozulmalar ve protein sentezindeki defektler ülser oluşumuna ve ağır seyretmesine katkıda bulunur.

**Tablo 15.** Diyabetli bir kişide ayak enfeksiyonunun varlığını ve ciddiyetini tanımlayan sınıflandırma sistemi [IWGDF/IDSA Guidelines, 2023'ten uyarlanmıştır.]

Evre / Şiddet	Klinik kriterler
<b>Evre 1 / Enfeksiyon yok</b>	Sistemik veya lokal semptom veya enfeksiyon belirtisi yok.
<b>Evre 2 / Hafif</b>	Yalnızca deri yüzeyinde beliren bir lezyon beraberinde aşağıdakilerden en az ikisi var: <ul style="list-style-type: none"> <li>Lokal artmış sıcaklık</li> <li>Ülser çevresinde 0.5-2 cm genişliğinde eritem</li> <li>Lokal hassasiyet veya ağrı</li> <li>Lokal şişlik veya sertlik</li> <li>Pürülan akıntı</li> </ul> <p>Ve derideki inflamatuvar yanıtın başka bir nedeninin olmaması (örn., travma, gut, akut charcot nöroartropatişi, kırık, tromboz veya venöz staz vb.)</p>
<b>Evre 3 / Orta</b>	Sistemik belirtilerin olmadığı ve şunları içeren enfeksiyon: <ul style="list-style-type: none"> <li>Yara kenarından (herhangi bir yöne) 2 cm.den fazla genişlemiş eritem ve/veya</li> <li>Deri ve deri altı dokulardan daha derindeki dokulara (örn., tendon, kas, eklem, kemik) ilerlemiş enfeksiyon (derin apse, lenfanjit, septik artrit, fasiit, osteomyelit* vb.)</li> </ul> <p>* Osteomyelit varsa evre adlandırmasına "O" eklenir: Evre 3(O)</p>
<b>Evre 4 / Ağır</b>	Aşağıdakilerden en az 2'si ile kendini gösteren, sistemik belirtilerle (sistemik inflamatuvar yanıt sendromu [SIYS]) ilişkili herhangi bir ayak enfeksiyonu: <ul style="list-style-type: none"> <li>Vücut sıcaklığı &gt;38°C veya &lt;36°C</li> <li>Nabız sayısı &gt;90/dakika</li> <li>Solunum hızı &gt;20/dakika veya PaCO<sub>2</sub> &lt;4,3 kPa (32 mmHg)</li> <li>Lökosit sayısı &gt;12.000/mm<sup>3</sup> veya &lt;4.000 mm<sup>3</sup> veya &gt;%10 olgunlaşmamış nötrofil varlığı</li> </ul> <p>* Osteomyelit varsa evre adlandırmasına "O" eklenir: Evre 4(O)</p>

Kısaltmalar – IWGDF, International Working Group on the Diabetic Foot; IDSA, Infectious Disease Society of America

Diyabetli kişilerin %25'inde, ömürlerinde en az bir kez DAÜ gelişir. Erken ve etkin tedavinin başlanmadığı durumlarda, ülserler iyileşmeyen kronik formlara dönüşür ve ekstremitenin amputasyonuna neden olabilir. DAÜ'nün yaklaşık %56'sı enfektedir, enfekte yarası olan hastaların %20'si alt ekstremitte amputasyonuna gidebilmektedir. Enfeksiyonun erken tanısı ve tedavisi önemlidir. Tanının klinik bulgu, semptomlar ve mikrobiyolojik inceleme sonuçları beraber değerlendirilerek konması gerekir.

Hastaların hastaneye yatırılma, cerrahi girişime veya amputasyona gitme kararını vermede yardımcı olması amacıyla, Diyabetik Ayak Uluslararası Çalışma Grubu (IWGDF) ve Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği'nin (IDSA) ortak çalışmaları sonucunda klinik kriterler getirilerek DAÜ sınıflandırılmıştır (**Tablo 15**).

Enfeksiyon bulunmayan durumlarda antibiyotik tedavisine gerek yoktur. Bu kriterlere göre enfeksiyondan şüphe duyulan (Evre 2'den itibaren), inflamasyon bulguları veren pürülan lezyonlardan mikrobiyolojik inceleme yapılmalıdır. Tüm açık yaralar normal flora mikroorganizmalarıyla kolonize olmaktadır. Bu durum pozitif kültürle tanı koymayı zorlaştırır. Doğru ve etkili tedavinin yapılabilmesi için uygun örnek alınıp incelenmesi önemlidir.

## Dekübitüs Ülserleri

Bası yarası veya yatak yarası olarak da bilinen dekübitüs ülserleri yatağa veya tekerlekli sandalyeye bağımlı kalan hastalarda görülür. Daha çok vücudun kemik çıkıntılarının üzerinde, basıncın fazla olduğu sırt, kalça, baldır ve topukta gelişir. Uzun süreli bası, yumuşak dokuda kan dolaşımının bozulmasına neden olur, bunu iskemi, nekroz ve doku kaybı izler. Doku hasarı derin kısımlarda daha fazladır, cilt yüzeyinde görülen ülserler, derindeki hasarı yansıtmaz.

Bası yaralarının oluşmasını kolaylaştıran etkenlerden birisi de enfeksiyondur.

Enfeksiyon ciltte kızarıklıkla başlar, yara büyüdükçe endürasyon, bül, siyanoz ve doku nekrozu gelişebilir. Kronikleşen yaralarda, cilt, cilt altı, yağ dokusu, fasya ve kaslara kadar inen derin doku harabiyeti bulunur. Altta bir eklem varsa, nekroz sinovya ve eklemi kapsayabilir. İlerlemiş olgularda osteomyelit, kemikte dislokasyonlar ve patolojik kırıklar gözlenebilir. Başarılı sonuçların alınması için enfeksiyonun erken tanımlanması ve enfeksiyon düzeyine göre uygun tedavinin verilmesi gereklidir.

Amerikan Ulusal Bası Yaraları Tavsiye Paneli (National Pressure Injury Advisory Panel; NPIAP) tarafından en son 2016 yılında revize edilen evrelendirme sistemi enfeksiyonun düzeyini belirlemede ve uygun antibiyotiğin seçilmesinde yol göstericidir. Bu panelde bası yaraları klinik görünümüne göre 4 evrede sınıflandırılmıştır (**Tablo 16**).

Dekübitüs Ülserlerinin iyileşmesi yaranın evresiyle yakından ilişkilidir. Birinci veya ikinci evrede tedaviye yanıt iyidir. Ancak daha ileri evrelerde daha agresif ve uzun süreli tedaviye gerek vardır. Dekübitüs Ülserlerinde yüzeyel ülserin belirmesi ile mikrobiyolojik kültür gerekliliği doğar.

Bası yarası olgularında birtakım komplikasyonlar da gelişebilir. Mikrobiyolojiyi ilgilendirenler şöyle özetlenebilir:

- Sepsis: Enfeksiyon etkeni bakteri dolaşıma katılarak sepsise neden olabilir. Yaşamı tehdit eden organ yetmezliklerine yol açabilir.
- Selülit: Deri ve yumuşak doku enfeksiyonu olan, ciltte kızarıklık ve şişlik oluşturan, şiddetli ağrı yapabilen (felçli olgular ağrı hissetmeyebilir) selülit, ölümcül komplikasyonlara neden olabilir.
- Kemik ve eklem enfeksiyonları: Septik artrit, kartilaj ve doku yıkımına neden olabilir. Osteomyelit ise eklem ve ekstremitelerin hareketini kısıtlar. Her iki durumda yaşamı tehdit eden komplikasyonlara neden olur.



**Tablo 16.** Bası yaralarının klinik ciddiyetini tanımlayan evrelendirme sistemi [‘NPIAP Fact Sheet, 2016’ dan uyarlanmıştır.]\*

Evre	Klinik kriterler
<b>Evre 1 /</b> Sağlam deride solmayan eritem	Lokalize, basmakla solmayan eritem alanına sahip sağlam cilt. Basmakla solan eritem varlığı veya duyu, sıcaklık veya sertlikte değişiklikler görsel değişikliklerden önce gelebilir. Renk değişiklikleri mor veya kestane rengi renk değişimini içermez (bunlar derin doku basıncı yaralanmasını gösterir).
<b>Evre 2 /</b> Basıya maruz kalan bölge derisinde kısmi-kalınlıkta deri kaybı	Basıya maruz kalan bölge derisinde kısmi-kat deri kaybı. Yara yatağı canlı, pembe veya kırmızı, nemlidir ve aynı zamanda sağlam seröz sıvı dolu veya rüptüre bir büli de mevcut olabilir. Yağ dokusu ve derin dokular görünmez. Granülasyon dokusu, kabuk ve eskar mevcut değildir.
<b>Evre 3 /</b> Tam-kalınlıkta deri kaybı	Yağ dokusu katmanı dâhil görülebilen derin ülser (krater) ile karakterize, sıklıkla granülasyon dokusu ve epibölün# mevcut olduğu tam-kalınlıkta deri kaybı. Kabuk ve/veya eskar görülebilir. Doku hasarının derinliği anatomik yere göre değişir; vücudun yağ dokusu bol olan bölgelerinde derin yaralar gelişebilir. Alttan ilerleyebilir, tüneller oluşabilir. Ancak fasya, kas, tendon, bağ, kıkırdak veya kemik açığa çıkmaz.
<b>Evre 4 /</b> Tam-kalınlıkta deri ve doku kaybı	Fasya, kas, tendon, ligament, kıkırdak veya kemiğin açığa çıktığı veya doğrudan palpe edilebildiği derin ülser ile karakterize tam-kalınlıkta deri ve doku kaybı. Kabuk ve/veya eskar görülebilir. Epiböl, alttan ilerleme ve/veya tüneller sıklıkla meydana gelir. Derinlik anatomik konuma göre değişir.
<b>Evrelendirilemeyen /</b> Gizlenmiş tam-kalınlıkta deri ve doku kaybı	Üzeri kabuk veya eskar ile örtülü olduğundan ülserdeki doku hasarının boyutunun doğrulanamadığı tam-kalınlıkta deri ve doku kaybı. Kabuk veya eskar çıkarılırsa Evre 3 veya Evre 4 bası yaralanması ortaya çıkacaktır.

\* NPIAP, son (2016) revizyonunda *Ülser* yerine *yara(lanma)* teriminin kullanılmasına karar vermiş; kendi adını da öncekinden farklı olarak ‘National Pressure Injury Advisory Panel’ olarak değiştirmiş.

# epiböl: yuvarlanmış yara kenarları (rolled wound edges)

Enfeksiyon etkenleri benzer olan diyabetik ayak ve dekübitüs yaralarına mikrobiyolojik tanı yaklaşımı aynıdır. Bu nedenle aşağıda her iki yara grubundan örneklerin incelenmesi ve sonuçlarının değerlendirilmesi birlikte ele alınmıştır.

## Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Mikrobiyolojik incelemeler için **yeni enfekte olmuş yaralardan** biyopsi örneği alınır. Ayrıca daha önce enfeksiyon gelişmiş ve bunun için antibiyotik aldığı halde iyileşme görülmeyen **kronik yaralardan** da biyopsi örnekleri alınmalı mikrobiyolojik yönden incelemelidir. Tüm olası patojenleri saptayabilmek amacı ile kemik ve yumuşak doku kültürleri birlikte alınmalıdır.

### Uygun olmayan örnekler

- Enfekte olmayan yaralar nadiren antibiyotik tedavisi gerektirir. Klinik olarak enfekte kabul edilmeyen yaradan örnek alınmamalıdır.
- Yara yüzeyinden eküvyonla alınmış sürüntüler diyabetik ayak ve dekübitüs yaralarının kültürü için uygun değildir!
- Formalin içerisinde gönderilen örnekler mikrobiyolojik inceleme için uygun değildir!

### Uygun örnekler

- Doku biyopsisi veya aspirasyon materyali.

Ülserli bölgenin çevresindeki deri %70'lik alkol veya povidon iyodin ile silinmeli, yara bol miktarda steril SF ile yıkanmalı, ardından nekroza uğramış dokular debride edilmelidir. Daha sonra, **yara tabanından ince iğne veya punch biyopsi örnekleri** (3-4 mm) alınabilir ya da şırınga ile pürülan madde (>2 mL) aspire edilebilir. Ayrıca debridman işleminden sonra, sağlıklı deriye yakın ülser sınırından, derin dokuya inilerek kazıntı alınabilir. Alınan örnekler hemen anaerop taşıma tüplerine konmalı ve 30 dakika içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır.

**Eküvyonla örnek alınması önerilmez!** Yine de eküvyonla almak kaçınılmaz ise, debridman ve temizlik yapıldıktan sonra dokunun derinine inilerek, aerop, anaerop kültürler ve preparat hazırlığı için üç adet eküvyonla sürüntü alınmalıdır.

## Örneklerin işlenmesi ve iş akışı

- Aspire edilen materyal pürülan ise, anaerop taşıma şişesi içinde vorteksenerek homojen hale getirilir.
- Materyal pürülan nitelikte değilse ve miktarı fazla ise santrifüj edilip çöküntü elde edilir.
- Punch biyopsiler ya da doku kazıntıları 1 mL sıvı tiyoglikolatlı besiyeri içinde ezilerek inceltirilir.

Böylece hazırlanmış örneklerin ekilecekleri besiyerleri **Tablo 17**'de verilmiştir. Katı besiyerlerine, örnek pürülan ise 1 öze, pürülan değilse 2-3 öze aktarılarak azaltma yöntemiyle ekim yapılır. Sıvı besiyerlerine de 0.5-1mL örnek dip kısmına eklenerek ekim gerçekleştirilir. Uygun atmosfer koşullarında uygun sürede inkübe edilirler.



Önceleri, **ülserlerde** bulunan bakteri sayısının, enfeksiyonun şiddeti, seyri ve iyileşme süresi ile ilgili olduğu kabul ediliyordu. Bu nedenle örnekler plaklara sayım tekniğiyle ekiliyor (kantitatif kültür) ve sonuçlar 1 gram dokuda mikroorganizma cinsinden ifade ediliyordu. Ancak son yıllarda, enfeksiyonun seyrinde dokuda bulunan bakteri sayısından ziyade spesifik patojenlerin ve virülans faktörlerinin daha önemli olduğu gösterilmiş, **kantitasyon yöntemi uygulamadan kaldırılmıştır!**

**Tablo 17.** Diyabetik ayak ve dekübitüs ülserlerinden alınan örneklerin işlenmesi

Klinik tablo / Örnekler	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı	Olası etkenler
		Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre		
Diyabetik ayak, dekübitüs ülserleri / Biyopsi dokusu, aspirat	Çokolata agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	48 sa	Günlük	<b>Aerop bakteriler</b> Stafilokoklar, Streptokoklar, Enterokoklar, Enterobacterales üyeleri, Pseudomonas, HACEK grubu, Nocardia spp
	Kanlı agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	24-48 sa	24., 48. sa	
	Anaerop besiyeri, Brucella agar, KVLB agar	35-37	Anaerobik	40-48 sa	>40 sa	
	MAC	35-37	Aerobik	24-48 sa	Günlük	
	Ek besiyeri olarak, organizmanın izolasyon şansını artırmak amacıyla: (üreme var ise ve diğer besiyerlerinde üreme yok ise KVLB agar, Fenil etil alkollü anaerop agar veya Bacteroides safırlı eskülinli agar besiyerlerine pasaj yapılır)					
Osteomyelit/ Kemik biyopsi örneği	THIO	35-37	Aerobik	16-24 sa	>40 sa	<b>Anaerop bakteriler</b> Bacteroides spp, Prevotella spp, Porphyromonas spp, Clostridium spp, Gram-pozitif anaerop koklar
	Çokolata agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	48 sa	Günlük	
	Anaerop kanlı agar	35-37	Anaerobik	40-48 sa	>40 sa	
Kan	Aerop ve anaerop kan kültür şişesi	35-37		Sinyal alınır alınmaz		

*Kısaltmalar* – KVLB, kanamycin-vancomycin laked blood; MAC, MacConkey agar; THIO, thioglycollate (broth) medium; sa, saat; HACEK, Haemophilus, Actinobacillus, Capnocytophaga, Eikenella corrodens, Kingella spp

Kültürlerde enfeksiyonun derecesine ve evresine göre izole edilen mikroorganizmaların çeşidi ve türü değişiklik gösterebilir. Farklı diyabetik enfeksiyon tipleri ve her birinde bulunabilecek olası etkenler **Tablo 18**'de verilmiştir. Dekübitüs ülserlerinde de benzer durum söz konusudur.

**Tablo 18.** Diyabetik ayakta enfeksiyon tipine göre olası etkenlerin dağılımı\*

Enfeksiyon tipi	Olası etken organizmalar
Selülit (beraberinde Ülser yok)	<i>S. aureus</i> , Beta-hemolitik streptokoklar (özellikle B grubu)
Yeni oluşmuş Ülser (antibiyotik kullanımı yok)	<i>S. aureus</i> , Beta-hemolitik streptokoklar
Kronik Ülser (antibiyotik kullanımı yok)	Birden fazla mikroorganizma ( <i>S. aureus</i> , Beta-hemolitik streptokoklar ve <i>Enterobacterales</i> ) bulunur. Daha önce sefalosporin kullananlarda enterokoklar da izole edilebilir.
Kronik Ülser (daha önce tedavi almış, mavimsi renk akıntı mevcut)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (sıklıkla yukarıda verilen bakterilerle birlikte bulunur)
İskemi, nekroz ve kangren mevcut, pis kokulu akıntı bulunmakta	Birden çok mikroorganizma (çeşitli Gram-pozitif aerop koklar, <i>Enterobacterales</i> üyeleri, nonfermentatif Gram-negatif basiller ve anaeroplara; <i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Prevotella</i> spp, <i>Cutibacterium acnes</i> <i>Peptostreptococcus</i> spp, <i>Clostridium</i> spp, Gram-pozitif anaerop koklar)

\* Dekübitüs yaraları için de benzerdir.

## Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Diyabetik ayak ve dekübitüs yara enfeksiyonlarında örneklerin Gram boyama ve kültür sonuçlarının raporlanması ile ilgili hususlar aşağıda özetlenmiştir.



### Diyabetik ayak ve dekübitüs yara örneklerinin inceleme sonuçlarının raporlanması

Gram boyalı mikroskopik inceleme	Gram yöntemi ve metilen mavisi ile boyanmış preparatların mikroskopik incelemelerinde, var olan mikroorganizmaların boyanma özellikleri, şekilleri ve kaç tür mikroorganizmanın bulunduğu, lökositlerin olup olmadığı belirtilmelidir.
Kültür	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uygun alınmış ve uygun şekilde laboratuvara gönderilmiş örneklerde üreyen aerop bakteriler tür düzeyinde tanımlanmalıdır.</li> <li>Mikroskop görüntüsünde çok sayıda lökosit ve bakteri bulunan, baskın olarak saf kültür halinde üreyen <i>S. aureus</i>'a, Gram-negatif basillere ve enterokoklara ADT yapılmalıdır.</li> <li>Kültürde karışık üreme varsa, bu bakterilerden biri baskın şekilde ürememiş ise minimal tanımlama testleri uygulanmalıdır. Klinisyenin talebi doğrultusunda daha fazla tanımlayıcı testlere gidilebilir.</li> <li>Anaerop bakterilerin bildirilmesi önemlidir. En azından <b>Tablo 14</b>'te verilen basit testler uygulanarak minimal düzeyde tanımlanmaları ve <i>Fusobacterium</i>, <i>Bacteroides</i>, <i>Porphyromonas</i>, <i>Prevotella</i> türleri, <i>Cutibacterium acnes</i> ve Gram-pozitif anaerop koklar üredi şeklinde bildirilmeleri gerekir.</li> <li>Anaerop bakterilerin <math>\beta</math>-laktamaz üretilip üretilmediği belirlenmelidir.</li> </ul>

## Kaynaklar

1. Byrd L. Examination of anaerobic culture plates for anaerobic bacteria. In: Isenberg HD, Garcia LS (eds), *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3<sup>rd</sup> ed. ASM Press, Washington, DC. 2010: 4.4.
2. Citron DM. Algorithm for identification of anaerobic bacteria. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 9<sup>th</sup> ed. ASM Press, Washington, DC. 2007: 377-8.
3. Edsberg LE, Black JM, Goldberg M, McNichol L, Moore L, Sieggreen M. Revised National Pressure Ulcer Advisory Panel pressure injury staging system. *J Wound Ostomy Continence Nurs* 2016; 43(6):585-597. erişim t. 20/06/2024 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5098472/pdf/wocn-43-585.pdf>
4. Lipsky B, Berendt A, Cornia PB. Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. IDSA guidelines. *Clin Infect Dis* 2012; 54(12):132-73.
5. Livesley NJ, Chow A. Infected pressure ulcers in elderly individuals. *Clin Infect Dis* 2002; 35(11):1390-6.
6. National Pressure Injury Advisory Panel (NPIAP). Pressure injury and stages. Sep 2016, [www.npiap.com](http://www.npiap.com) erişim t. 20/06/2024 <https://cdn.ymaws.com/npiap.com/resource/resmgr/NPIAP-Staging-Poster.pdf>
7. Richard JL, Sotto A, Lavigne JP. New insights in diabetic foot infection. *World J Diabetes* 2011; 2(2):24-32.
8. Senneville É, Albalawi Z, van Asten SA, et al. IWGDF/IDSA Guidelines on the diagnosis and treatment of diabetes-related foot infections (IWGDF/IDSA 2023). *Clin Infect Dis* 2023; p.1-23 erişim t. 20/06/2024 <https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciad527/7287196>
9. Türkiye diyabet önleme ve kontrol programı: 2015-2020. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara, 2014. erişim t. 20/06/2024 <https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/saglikli-beslenme-ve-hareketli-hayat-db/Dokumanlar/Programlar/Turkiye-Diyabet-Programi.pdf>
10. Williams DT, Hilton JR, Harding KG. Diagnosing foot infection in diabetes. *Clin Infect Dis* 2004; 39(2):83-6.

## BÖLÜM 9

### GÖZ ÖRNEKLERİ

Göz, küçük olmakla birlikte farklı yapıda tabakaları bulunan, flora içerebilen kısımlarının yanı sıra tamamen steril bölgelerinin de olması nedeniyle kültür sonuçlarının değerlendirmesinde özel dikkat gerektiren bir organdır. Gözde alerjik reaksiyonlar sık görüldüğü için enfeksiyonların mikrobiyolojik olarak doğrulanması gereklidir. Ayrıca yardımcı bez ve kanallarının enfeksiyonlarına da rastlanmaktadır. Mikroorganizmalar dışarıdan eller, kontakt lens, kozmetik ve travmaya bağlı yabancı cisimden, cerrahi sonrası veya komşu bölge florasından kaynaklanabilir.

Gözde görülebilecek enfeksiyonlar ve etkenleri anatomik bölgelere göre ayrılabilir. Bazı klinik durumlarda birden çok anatomik bölgenin enfeksiyona katılımı görülebilir. Konjunktiva enfeksiyonlarına konjunktivit, göz kapağı enfeksiyonlarına blefarit, konjunktiva ve göz kapağının birlikte enfeksiyonlarına blefarokonjunktivit denilmektedir. Kornea enfeksiyonları keratit, gözün kendi iç kısmındaki enfeksiyonu ise endoftalmit olarak tanımlanmaktadır. Uvea ve retinanın tutulumuyla görülen üveit ve retinit ise sıklıkla sistemik enfeksiyonlara ikincil olarak görülmektedir. Göz yaşı bezi enfeksiyonları dakriyoadenit, lakrimal keseninki dakriyosistit, lakrimal ağız ve kanalinki ise kanalükülit olarak tanımlanmaktadır. Doğumdan sonraki ilk dört hafta içerisinde gelişen çoğunlukla *Chlamydia trachomatis* veya *Neisseria gonorrhoeae* kaynaklı enfeksiyonlar oftalmia neonatarum olarak adlandırılır.

Özellikle keratit ve endoftalmit vakalarında hızla görme kaybı gelişebileceği için, ayrıca bazı etkenler nozokomiyal salgınlara yol açabileceğinden bunların yayılmalarını önleyebilmek ve en kısa sürede doğru tedaviyi başlatabilmek için göz enfeksiyonlarında hızlı ve doğru mikrobiyolojik tanı önem kazanmaktadır.

Gözün dışını tutan enfeksiyonlarda, özellikle konjunktivitlerde yapılan antimikrobiyal duyarlılık testlerinde direnç tespit edilen antibiyotiklerle dahi tedavi başarısı sağlanması mümkün olabilmektedir. Bu fenomen, (antimikrobiyal duyarlılık sınırlarının serum değerlerine göre hesaplanmış olduğu da hatırlanırsa) lokal uygulanan ilaç konsantrasyonlarının sistemik uygulananlara göre çok yüksek düzeyde olabilmesi ile ilgilidir.

### Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Göz enfeksiyonlarında tanıda kullanılan örnekler ve olası etkenler **Tablo 19'**da özetlenmiştir.

Yüzeysel enfeksiyonda eğer tek gözde etkilenme varsa, sağlam gözden de örnek alınması ekten mikroorganizma ile flora üyesi arasında ayırım yapmaya imkân verebilir. Her iki gözden yapılan kültürde aynı olan üremeler yüksek olasılıkla flora kaynaklı olup, klinikle ilişkili değildir.

Göz enfeksiyonlarının tanısında örneklerin, göz hastalıkları uzmanı tarafından muayene sırasında alınması ve keratit gibi durumlarda da ekimlerin hasta başında yapılması gereklidir.

**Tablo 19.** Gözde gelişen enfeksiyonlarda tanı için kullanılan örnekler ve olası etkenler

Enfeksiyon hastalığının adı	Örnek türü	Olası etkenler		
		Bakteri	Virüs	Mantar
Keratit	Kornea kazıntısı	Stafilokoklar, streptokoklar, <i>Pseudomonas</i> türleri, <i>Enterobacterales</i> , <i>Corynebacterium</i> ve <i>Propionibacterium</i> türleri, mikobakteri türleri, <i>Nocardia</i> türleri	Adenovirus, HSV, VZV	<i>Candida</i> , <i>Fusarium</i> ve izole edilebilenler
Kontakt lense bağlı keratit	Kontakt lens, lens solüsyonu	<i>P. aeruginosa</i> , mikobakteri türleri ve izole edilebilen diğerleri	Adenovirus, Enterovirus	İzole edilebilenler
Konjunktivit, Blefarit	Konjunktiva sürüntüsü (eküvyon), püvy	<i>H. influenzae</i> , A,B,C ve G grubu streptokoklar, <i>Moraxella</i> türleri, <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>Enterobacterales</i> ve izole edilebilen diğerleri, <i>C. trachomatis</i> Blefaritte, bu mikroorganizmalara ek olarak anaerob bakteriler de etken olabilir.		
Dakriosistit	Gözyaşı kanalı girişi sürüntüsü (eküvyon), püvy, aspirat		Adenovirus, Enterovirus, HSV, VZV	İzole edilebilenler
Endoftalmit	Ön kamara sıvısı, vitröz biyopsi	Koagülaz negatif stafilokoklar, <i>S. aureus</i> , streptokoklar, <i>Cutibacterium acnes</i> . Cerrahi sonrası: <i>Enterobacterales</i> , <i>P. aeruginosa</i> ve izole edilebilenler		<i>Aspergillus</i> , <i>C. albicans</i> , izole edilebilenler
Üveit, Retinit*	Etkene göre değişken: CMV- sistemik viral yük, <i>Treponema pallidum</i> - BOS VDRL	<i>M. tuberculosis</i> , <i>T. pallidum</i>	CMV, HSV, VZV	

*Kısaltmalar* – HSV, herpes simplex virus; VZV, varicella zoster virus; CMV, cytomegalovirus; BOS, beyin-omurilik sıvısı; VDRL, venereal disease research laboratory (test)

\* Sıklıkla sistemik enfeksiyondan yayılımla gelişir.

Tüm örnekler lokal veya sistemik antibiyotik başlanmadan önce alınmalıdır. Viral veya klamidyal enfeksiyonlardan şüphelenildiği durumlarda ise örnekler ayrıca topikal anestezi yapılmadan önce alınmalıdır. Tanı için PCR kullanılacak ise, göz muayenesi sırasında pudrasız eldiven giyilmiş olmalı, inhibitör etki göstereceklerinden dolayı muayene için uygulanmış olan floresan boya veya oksibuprocaine gibi ilaçlar gözden steril SF ile yıkanıp uzaklaştırılmalıdır.

Bakteri enfeksiyonları yanında viral enfeksiyonlardan da şüpheleniliyorsa her birisi için ayrı örnek alınması önerilir. Hangi enfeksiyöz ajanların (bakteriyel, viral, klamidyal) incelenmesi planlanıyorsa ona uygun ayrı eküvyon ve taşıma sistemi kullanılır. Göz örneklerinin alınmasında pamuk uçlu ve tahta saplı eküvyon kullanılmaz. Eküvyonlar tel veya plastik şaftlı esnek yapıda olmalıdır. Klamidya kültürleri için kalsiyum aljinatlı, viral kültürler için ise Dacron-uçlu eküvyon kullanılmalıdır.

Trahom için örnek almak amacıyla göz kapağı dışı çevrilmeli; folikül, inflamasyon veya skar dokusunun olduğu bölgeler seçilerek yoğun epitel hücresi toplanmasına çalışılmalıdır.

*Acanthamoeba* türlerine bağlı keratit tanısında kültür için Page çözeltisi (Page's saline) ile hazırlanmış %1.5 agar içeren katı besiyeri önerilir. Bu besiyeri non-nutrient agar (NNA) olarak adlandırılmaktadır. Besiyeri plağına ekim yapılmadan önce bir *E. coli* süspansiyonu ile yüzeyi kaplanır ki bu amipler için besin kaynağı sağlar. Besiyerinin Page çözeltisi yerine daha kolay erişilecek PBS (fosfatla tamponlanmış tuzlu su) ile hazırlandığında da başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Aynı şekilde örnek naklinde de, Page çözeltisi bulunamıyorsa PBS kullanılması önerilmektedir.

## Örneklerin işlenmesi ve iş akışı

Kornea kazıntısı alındığı durumda laboratuvarından istenmiş katı besiyerlerine göz uzmanı tarafından **hasta başında** ekim yapılması en uygundur. Alınan her kornea kazıntısı besiyeri yüzeyine sıra ile C harfi şeklinde ekilir. C harfi örneğin kornea kaynaklı olduğunu hatırlatmak için önerilmektedir. Sıra ile yapılan ekim, örneğin azaltma ekimine de yardımcı olacaktır. Her kat ayrı ekildiğinde, korneanın farklı katlarını tutan birden fazla etken var ise saptanmasını sağlayabilecektir.

Göz enfeksiyonlarında alınan örneklerin flora içeren veya içermeyen bölgelere göre kültürleri ve izlenmesi **Tablo 20** ve **Tablo 21**'de özetlenmiştir.

**Tablo 20.** Gözde yüzeyel ve komşu bölgelerin katıldığı enfeksiyonlarda kültür ve izlenmesi

Klinik durum	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı	Önerilen asgari düzeyde tanımlama
		Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre		
Blefarit, konjunktivit	Çikolata agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	48 sa	>40 sa	Tür düzeyinde
	Kanlı agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	24-48 sa	24., 48. sa	Tür düzeyinde
Aşağıdaki klinik durumlar veya bulgular varsa, yukarıdakilere ek olarak;						
Yenidoğanlar	Çikolata agar, Thayer Martin veya GC selektif agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	48 sa	48. sa	<i>N. gonorrhoeae</i> , tür düzeyinde
İmmün yetmezlik, kronik blefarit	SDA	28-30	Aerop	48 sa	>40 sa	Mantarlar, tür düzeyinde
Kanalikülit, dakriosistit, keratit, endoftalmit, cerrahi veya travma öyküsü ek olarak bulunması	Anaerop agar	35-37	Anaerop	40-48 sa	>40 sa	Anaeroplara
	Anaerop agar	35-37	Anaerop	10 gün	>40 sa, 7. ve 10. gün	Aktinomiçes türleri
	SDA	28-30	Aerop	48 sa	>40 sa	Mantarlar, tür düzeyinde
Gram boyamada Gram-negatifler görüldü ise	CLED agar, EMB veya MAC	35-37	Aerop	16-24 sa	>15 sa	Mümkün olan tür düzeyinde

Kısaltmalar – SDA, Saboraud dextrose agar; CLED, cystine-lactose-electrolyte-deficient; EMB, eosine-methylene blue (agar); MAC, MacConkey agar; sa, saat

**Tablo 21.** Göz içi sıvı ve kornea kazıntı örneklerinin işlenmesi

Klinik durum	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı	Önerilen asgari düzeyde tanımlama	
		Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre			
Endoftalmit Keratit	Çikolata agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	48 sa	Günlük	Tür düzeyinde	
	Anaerop agar	35-37	Anaerop	40-48 sa	>40 sa	Anaeroplara	
	Gram boyamada dallanan Gram-pozitif çomaklar görüldü ise: Anaerop agar	35-37	Anaerop	10 gün	>40. sa, 7. ve 10. gün	Aktinomiçes türleri	
	SDA	28-30	Aerop	48 sa	>40 sa	Mantarlar, tür düzeyinde	
	Ek besiyeri olarak, organizmanın az olması durumunda izolasyon şansını artırmak amacıyla						
	Beyin-kalp infüzyon sıvı besiyeri	35-37	Aerop	16-24 sa	24. sa	Üreme var ise aşağıdaki besiyerlerine pasaj yapılır!	
	Çikolata agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	48 sa	Günlük	Tür düzeyinde	
	Kanlı agar	35-37	%5 CO <sub>2</sub>	24-48 sa	24., 48. sa	Tür düzeyinde	

Göz içinden alınan sıvı örneğinden besiyerlerine ekimler yapıldıktan sonra eğer bir miktar artar ise, pediatrik kan kültür şişesine de ekim yapılarak takip edilmesi kullanılan yöntemlerdendir.

*Acanthamoeba* türleri için kültür inkübasyonu 30°C'de yapılmalıdır. Plaklar 24 saatte bir kontrol edilerek 7. güne kadar takip edilir. Plaklar invert mikroskopta incelenebileceği gibi ters çevrilerek ışık mikroskobu altında 10× veya 20× objektif ile de gözlenebilir. Trofozoitler besiyeri yüzeyinde ekili bakteriler arasında yollar oluşturarak birçok çizgi görünümü meydana getirirler. Ayrıca çok tipik, daire içerisindeki poligonal yapılar şeklinde kistlerin görülmesi de olasıdır.

Virüs ve klamidya enfeksiyonlarında tanı yöntemine ve kite uygun eküvyon ve viral taşıma besiyerleri kullanılması kritik önemdedir. Virüs saptanması için, imkânları olan laboratuvarlarda hücre kültürü uygulanabilir. DFA yöntemi ile antijen aranması da tanı amacıyla kullanılan yöntemler arasındadır. Adenovirüs konjunktiviti tanısı için, özel olarak geliştirilmiş hasta başında kullanılan, immünokromatografik veya benzeri hızlı, kolay testler de kullanılmaktadır. Virüs ve klamidya kaynaklı enfeksiyon şüphesinde son yıllarda tanıda PCR yöntemleri tercihi artmıştır; aynı günde sonuç elde edilebildiğinden PCR giderek yaygınlaşmaktadır.

## Sonuçların raporlanması

Göz enfeksiyonlarında örneklerin raporlanması ile ilgili hususlar aşağıda özetlenmiştir.



### Göz örneklerinin inceleme sonuçlarının raporlanması

Gram boyalı mikroskopik inceleme	Gram boyama sonuçları mümkün olan en kısa sürede raporlanır. Kritik bölgelerden ( <b>göz içerisinden</b> alınan veya <b>kornea kazıntısı</b> gibi) alınan örneklerin <b>1 saat içerisinde</b> raporlanması idealdir. Lökositler ve saptanan mikroorganizmalar raporlanmalıdır. Etken olarak mikobakteri düşünülen durumlarda EZN boyama yapılmalıdır.
Kültür	<ul style="list-style-type: none"> <li>Floralı bölgelerden alınan örneklerde, klinik olarak anlamlı olan üremeler raporlanır. Flora üyelerinin yoğun üremesi saptandı ise, üreyen bakterinin adı flora üyesi olabileceği not edilerek bildirilebilir.</li> <li>Aspirat, biyopsi, steril sıvı örneklerinde üreyen tüm mikroorganizmalar raporlanır. Üreme saptanmaz ise "..... günde üreme olmadı" şeklinde raporlanır.</li> <li>Klinik olarak anlamlı üremelerde ADT yapılır ve üremeler ADT sonuçları ile beraber raporlanır.</li> <li><b>Keratit</b> ve <b>endoftalmi</b> örneklerinde <b>tüm üremeler raporlanmalıdır</b>.</li> </ul>
Klamidya veya virüsler için <b>kit</b> kullanılmışsa	Kitin önerileri doğrultusunda raporlanır. Kullanılan yöntemin raporda tanımlaması yapılmalıdır. Örneğin; "PCR (veya nükleik asit amplifikasyon yöntemi) ile Adenovirüs saptandı." "DFA yönteminde klamidya antijenleri saptanmadı."

## Raporlama süresi

Klinik olarak (keratit, endoftalmi gibi) **acil bildirilmesi gereken** mikroorganizma varlığında telefon ve elektronik raporlama ile hemen bilgi verilmelidir.

Eğer 16-72 saat içerisinde sonuç alınamıyorsa, yazılı olarak ön rapor verilir, daha sonra kesin rapor düzenlenebilir.



## Kaynaklar

1. Anderson D, Soo SS, Towler H. Acanthamoeba keratitis: experience in a non-specialist microbiology laboratory. *J Clin Pathol* 1991; 44(8):699.
2. Armstrong RA. The microbiology of the eye. *Ophthalmic Physiol Opt* 2000; 20(6):429-41.
3. Bourcier T. Ocular infections. In: Cornaglia G, Courcol R, Herrmann JL, Kahlmeter G, Peigue-Lafeuille H, Vila J (eds). *European Manual of Clinical Microbiology*. 1<sup>st</sup> ed. France. 2012: 203-214.
4. Darlene Miller. Ocular infections. In: Mahon CR, Manuselis G (eds). *Textbook of Diagnostic Microbiology*, 2<sup>nd</sup> ed. W.B. Saunders C, USA. 2000: 1083-1114.
5. Garg P. Fungal, Mycobacterial and *Nocardia* infections and the eye: an update. *Eye (Lond)*. 2012; 26(2):245-51. doi: 10.1038/eye.2011.332.
6. Høvdig G. Acute bacterial conjunctivitis. *Acta Ophthalmol* 2008; 86(1):5-17.
7. Infections of eyes, ears and sinuses. In: Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (eds). *Bailey&Scott's Diagnostic Microbiology*. 12<sup>th</sup> ed., Mosby Elsevier, USA. 2007: 832-837.
8. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 Update by the IDSA and the ASM. *Clin Infect Dis* 2018; 67(6): e14–e19. erişim t. 20/01/2024 <https://academic.oup.com/cid/article/67/6/e1/5046039>
9. Sharma S. Diagnosis of infectious diseases of the eye. *Eye (Lond)*. 2012; 26(2):177-84. doi: 10.1038/eye.2011.275 erişim t. 20/06/2024 file:///C:/Users/Efsun%20Akbas/Downloads/eye2011275.pdf
10. Sharp SE, Drinks MR. Bacterial infections of the eye. In: *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 2010.
11. UK Standards for Microbiology Investigations. Investigation of bacterial eye infections. *Bacteriology*, B2, Issue no 6.1, Apr 2017; 1-24 erişim t. 20/01/2024 <https://www.rcpath.org/static/6454dee5-718e-4cc9-be5cb80a8294c177/UK-SMI-B-2i61-May-2017-Investigation-of-Bacterial-Eye-Infections.pdf>

[www.klimud.org](http://www.klimud.org)  
Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD)  
Meşrutiyet Cad. Kùltür Apt. No: 38/15 Kat: 7 Kızılay-Ankara/Tùrkiye  
Tel: +90 312 230 78 18 • +90 530 693 86 67  
[info@klimud.org](mailto:info@klimud.org) • [klimud@gmail.com](mailto:klimud@gmail.com)