

BASI YARALARINDA ENFEKSİYON AJANINI BELİRLEMEDE DOKU KÜLTÜRÜNÜN KULLANIMI

USE OF TISSUE CULTURE IN DETERMINING INFECTION AGENT IN PRESSURE SORE CASES

*Arzu Türkseven, *Derya Özçelik, **Elif Öztürk, **Gülkan Karadağ, ***Hakan Çakıt, ****Handan Ankaralı

* Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, DÜZCE

** Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DÜZCE

*** Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, DÜZCE

**** Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı, DÜZCE

ÖZET

Giriş: Dokularda uzun süreli basınç altında kalmaya bağlı olarak gelişen iskemik doku kaybına bası yarası denir. Bası yarası zemininde enfeksiyon gelişmesi sıktır. Günümüzde enfekte bası yaralarında doğru antibiyotiği başlamak için, enfeksiyona yol açan patojeni belirlemede sürüntü kültürü yerine doku kültürü kullanımı önerilmektedir.

Biz, bası yaralarında doku kültürlerinin nereden alınması gerektiği üzerine bir çalışma planladık. Ayrıca hastaların doku kültür sonuçlarını sürüntü kültürü ve kan kültürü sonuçları ile karşılaştırmayı planladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 14 bası yarası olan hastamızdan bası yarasının yüzeysel kısmından 18 adet, derin kısmından 18 adet doku kültürü aldık. 6 hastadan aynı zamanda 9 adet yüzeysel sürüntü kültürü de aldık. Yine aynı zamanda 13 hastadan 16 kan kültür örneği aldık. Ve bütün hastalardan hemogram için kan örneği aldık.

Bulgular: Çalışmaya katılan 14 hastadan yüzeysel ve derin olarak alınan 36 doku kültürünün 19'unda bir çeşit, 12'sinde en az iki çeşit bakteri üremiş, 5'inde bakteri ürememiştir. Derin ve yüzeysel doku kültürleri arasında 2 hasta dışında üreyen bakteriler açısından farklılık olmamıştır. İstatistiksel açıdan, derin ve yüzeysel doku kültürleri arasında bakteri çeşitliliği açısından anlamlı bir fark oluşmamıştır.

6 hastadan alınan 9 adet yüzeysel sürüntü kültürünün 8'inde en az 2 çeşit bakteri üremiştir ve bunlar kontaminasyon olarak değerlendirilmiştir.

13 hastanın kan kültürü ile doku kültürü sonuçları karşılaştırıldığında; 5 hastanın doku ve kan kültürlerinde farklı mikroorganizmalar ürerken, 1 tanesinde aynı olarak Pseudomonas üremiştir.

Sonuçlar: Yüzeysel sürüntü kültürlerinde ortalama 6 çeşit bakteri ürerken derin ya da yüzeysel doku kültürlerinde 1-2 çeşit bakteri üremesi, bası yaralarında patojeni belirlemede doku kültürünün daha güvenilir olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak bası yaralarında doku kültürlerinin yüzeysel veya derin alandan alınması arasında izole edilen patojenler göz önüne alındığında istatistiksel olarak fark olmadığını belirledik. Sürüntü kültürlerinde ise kontaminasyon sebebiyle çok sayıda bakteri çeşidinin ürediğini ve bası yaralarında patojen tayininde sürüntü kültürünün yerini doku kültürü kullanımının uygun olduğu kararına vardık. Çalışmamızda doku kültüründe üreyen patojen tipi ile kan kültüründe üreyen patojen tipi arasında ilişki bulunamadı.

Anahtar Sözcükler: Bası yarası, enfeksiyon, doku kültürü

ABSTRACT

Introduction: Pressure sore is the ischemic tissue damage due to the long-term exposure to the pressure. In pressure sore regions, infection development is common. In pressure sore cases, tissue cultures are recommended instead of swab cultures in determination of the pathogen to start accurate antibiotic treatment.

We planned a study to determine the correct place to take the tissue cultures. We also aimed to compare the tissue culture results with the swab culture and blood culture results.

Material and Methods: 18 superficial and 18 deep tissue cultures were received from 14 patients who had pressure sores. Besides, 9 swab cultures were received from 6 patients, simultaneously. 16 blood cultures were received from 13 patients, simultaneously. Blood samples were received from all patients for hemogram study.

Results: Out of 36 tissue cultures taken either superficially or deeply from 14 patients, one type of bacteria was isolated in 19 tissue cultures, more than two types has been isolated in 12 tissue cultures and none in 5 cultures. There was no difference in terms of isolated bacteria types between deep and superficial tissue cultures except for 2 patients. There was no statistically significant difference between superficial and deep tissue cultures in terms of isolated bacteria types.

Out of 9 superficial swab cultures was received from 6 patients, at least two types of bacteria were isolated in 8 samples and they were all assessed as contamination.

When we compare tissue culture and blood culture results of 13 patients; different microorganisms were isolated in 5 patients and the same microorganism was isolated only in 1 patient (Pseudomonas).

Conclusions: Isolation of average 6 types microorganisms in swab cultures and average 1-2 types microorganisms in tissue cultures indicates that tissue cultures are more reliable and accurate tests in determining the pathogen in the pressure sores.

As a result, we determined that there is no statistically significant difference in terms of isolated pathogens between superficial and deep tissue cultures taken from pressure sore zones. Because of contamination, more than one kind of bacteria were isolated in swab cultures and therefore we concluded that tissue culture should be preferred instead of swab culture in pressure sores. At this study, no correlation regarding the isolated pathogen type between the tissue culture and blood culture was detected.

Keywords: Pressure sore, infection, tissue culture

GİRİŞ

Bası yarası sıklıkla iskiyal, trokanterik ve sakral bölgede meydana gelmektedir. Bu bölgelerdeki bası yaralarında enfeksiyon sık görülür. Bakteri direkt olarak çevreden bulaşabileceği gibi, ürogenital ve sindirim sisteminden de kaynaklanabilir.^{1,2} Enfeksiyona neden olan ajanın tespiti doğru antibiyotik seçimi ve enfeksiyon kontrolü için hayatidir. Bu amaçla bası yaralarından alınan, yüzeysel sürüntü örneklerinden elde edilen sonuçlar çoğunlukla kontamine olan floranın kültürde üremesi ile sonuçlanmaktadır. Sürüntü örneklerinden izole edilen kolonizasyonun saprofit mi olduğu (non-patojen bakteriler) veya derin doku enfeksiyonundan mı orijin aldığını belirlemek zordur.¹ Bununla birlikte bası yaraları kemik gibi derin dokulara kadar ilerleyebilmektedir ve derin dokularda üreyen bakterilerin belirlenmesi için yüzeysel sürüntü örnekleri yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle günümüzde bası yaralarında üreyen patojen ajanı belirlemede, yüzeysel sürüntü örnekleri yerine doku kültürlerinin alınması önerilmektedir.^{2,3} Doku kültürlerinin bası yarasının neresinden alınması üzerine yapılmış kontrollü bir çalışma bulamadık. Bu nedenle biz, bası yaralarında enfeksiyona neden olan patojenin ortaya konmasında kullanılan doku kültürünün yüzeysel ve derin alındığında üreyen patojenler açısından fark olup olmadığını araştırdık. Ayrıca bası yarası olan hastalarımızın bası yaralarından alınan doku kültürü ve sürüntü kültürleri sonuçları arasındaki farkları inceledik. Ek olarak doku ve sürüntü kültürleri ile eş zamanda alınan kan kültürü sonuçlarını karşılaştırdık. Antibiyogram sonuçlarına göre hastaların enfeksiyon tedavilerini planladık.

GEREÇ VE YÖNTEM / OLGU SUNUMU

Çalışma 2009 Eylül - 2010 Haziran tarihleri arasında Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD'nda tedavi edilen 14 bası yaralı hastada yapıldı. Bası yaralı hastaların; yaş/cinsiyet, eşlik eden hastalıkları, bası yarasının yeri ve derecesi, ebatları ve enfeksiyon bulgularının olup olmadığı ilk muayene sırasında kaydedildi. Herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadan önce, eş zamanlı olarak doku biyopsileri, yüzeysel sürüntü kültürleri, kan kültürleri ve hemogram için kan örnekleri alındı. Çalışma 9 ay sürdü. Enfeksiyon ajanını tanımak için doku kültürü ve sürüntü kültürü almak rutin bir uygulama olduğundan etik kuruldan ayrıca bir izin alınmadı.

A- Bası Yaralarının Sınıflandırılması:

Evre 1: Bası kaldırıldıktan 30 dakika sonra geçmeyen eritem mevcuttur. Epidermis sağlamdır.

Evre 2: Epidermis ve/veya dermisi içeren kısmi kalınlıkta cilt kaybı vardır. Yara yüzeyseldir, aşınma, su toplamış kabarcık veya derin olmayan bir krater şeklinde olabilir.

Evre 3: Subkutan dokunun hasarını veya nekrozunu içe-

ren tam kalınlıkta cilt kaybı vardır. Altta fasyaya kadar uzanır ancak fasyayı içermez. Klinik olarak derin bir krater şeklindedir.

Evre 4: Deride tam kat kayba altta fasya, kas, kemik ya da eklem kapsülünde nekrozlar eşlik eder. Sinus traktı olabilir.

B- Örnekler:

Doku kültürleri: (36 örnek) Doku kültürleri her hastadan debridman öncesinde cerrahi prensiplere uygun olarak polyvidone iyot solüsyonu ve %0,9 izotonik sodyum klorür solüsyonu ile dezenfeksiyon yapıldıktan sonra bası yarasının tabanından ve yüzeyinden 1cm³ büyüklüğünde iki örnek şeklinde alındı ve mikrobiyolojik doku kültürü çalışmasına tabii tutuldu. 14 hastanın 3'ünde farklı tarihlerde olmak üzere 2. kez yüzeysel ve derin doku kültürleri alındı. Bir hastadan da sağ ve sol trokanterik bası yarısından ayrı ayrı olmak üzere yüzeysel ve derin doku kültürü alındı (Tablo 1). Bu nedenle 14 hastada toplam 36 doku kültür örnek sayısı (18 derin ve 18 yüzeysel olmak üzere) oluştu.

Yüzeysel sürüntü kültürü: (9 örnek): 6 hastadan bası yarasının yüzeyinden nemli pamuk çubuk yardımıyla sürüntü kültürü alındı. 6 hastanın 2'sinde farklı tarihlerde olmak üzere 2. kez sürüntü kültürü alındı. Bir hastadan sağ ve sol trokanterik bası yarısından ayrı ayrı olmak üzere 2 sürüntü kültürü alındı. Bu nedenle 6 hastada toplam 9 sürüntü kültür örnek sayısı oluştu.

Kan kültürü: (16 örnek) 14 hastanın 13'ünden kan kültür örneği alındı. 1 hastadan alınmadı. Kan kültür örneği alınan 13 hastanın 3'ünden ikinci kez farklı bir zamanda kan kültür örneği alma işlemi yinelenildi. Doku kültürleri ile kan kültürü, olabilecek üremelerin aynı tip ajan olup olmadığını tespit etmek için eş zamanlı alındı.

Kan örnekleri (14 örnek): Kan lökosit düzeyi araştırıldı. 14 hastanın hepsinden kan örneği alındı.

C- Mikrobiyolojik Gereç ve Yöntem:

Doku kültürleri: Laboratuara steril serum fizyolojik içinde gönderilen 1cm³ büyüklüğündeki yüzeysel ve derin doku biyopsi örneklerinden, steril koşullarda bir parça kesilerek tartılıp not edilmiştir. Doku biyopsi örnekleri, yüzeylerindeki bakterilerin uzaklaştırılması için aseptik koşullarda saf su ile üç kez yıkanmış ve daha sonra doku parçaları ayrı ayrı steril kaplara konulup steril bistüri ile kıymalanmıştır. Kıymalanan dokular tüplere aktararak üzerine steril cam boncuk ilave edilip (dokunun büyüklüğüne göre 0,5-5 ml) serum fizyolojik eklenmiştir. Hafif santrifüjleme yöntemi ile (1000 rpm'de 2 dk) doku artıklarının çökmesi sağlanmış ve üstteki sıvıdan 0,01 ml sıvı, öze ile alınarak % 5 koyun kanlı ve eozin metilen blue (EMB) (HiMedia, İndia) agara tek koloni ekimi yapılmıştır. 37°C' de 18-24 saat inkübasyondan sonra koloniler

Tablo 1. Bası Yaralarından Alınan Yüzeysel ve Derin Doku Kültürü; Yüzeysel Sürüntü Kültürü; Gram ve Giemsa Boyamaları; Kan Kültürü ve Beyaz Küre Sonuçları

HASTA	YÜZEYEL DOKU BAKTERİ ve SAYISI	DERİN DOKU BAKTERİ ve SAYISI	YÜZEYEL SÜRÜNTÜ KÜLTÜRÜ	GRAM	GIEMSA	KAN KÜLTÜRÜ	BEYAZ KÜRE SAYISI
1. SÇ	10 ⁵ Enterobacter spp 10 ⁵ Ps. aeruginosa	10 ⁵ Enterobacter spp 10 ⁵ Ps. aeruginosa	Çalışılmadı	A-B: Gram (-) basiller görüldü Lökosit görülmedi	A-B: Lökosit görülmedi	Staf. aureus	4,33
2. MZ	10 ⁵ K. pneumoniae 10 ⁵ Ps. aeruginosa	10 ⁵ K. pneumoniae 10 ⁵ Ps. aeruginosa	Çalışılmadı	A-B: Gram (-) basiller görüldü Lökosit görülmedi	A-B: Lökosit görülmedi	Üreme görülmedi	12,4
3. MT	10 ³ Difteroid	10 ³ Difteroid	Çalışılmadı	A-B: Bakteri görülmedi Lökosit görülmedi	A-B: Lökosit görülmedi	Üreme görülmedi	5,92
4. MD	Gram (-) basil Gram (+) kok Gram (+) basil	10 ⁵ E. coli 10 ⁵ Flavimonas aryzobili	Çalışılmadı	A: Cilt florası ile kontaminasyon B: Gram (+) kok, Gram (-) basil görüldü Nadir lökosit görüldü	A: Lökosit görülmedi B: PNL karakterli nadir lökosit görüldü	Enterococcus faecium	23,2
5. MD	Üreme görülmedi	Üreme görülmedi	Çalışılmadı	A-B: Bakteri görülmedi Lökosit görülmedi	A-B: Lökosit görülmedi	Üreme görülmedi	10,7
6. AK	10 ⁵ E. coli	10 ⁵ E. coli	Çalışılmadı	A-B: Gram (-) basil, Gram (+) kok görüldü. Her alanda 3-4 lökosit görüldü	A-B: PNL karakterli lökositler görüldü	Cilt florası ile kontaminasyon	20,4
7. FA	10 ⁵ C. albicans	10 ⁵ C. albicans	Çalışılmadı	A-B: Maya hücreleri görüldü Lökosit görülmedi.	A-B: Lökosit görülmedi	Enterococcus Gallinorum	10,1
8. İK	10 ⁵ Enterococcus spp	10 ⁵ Enterococcus spp	Çalışılmadı	A-B: Bakteri görülmedi Lökosit görülmedi	A-B: Lökosit görülmedi	Üreme görülmedi	11,3
9. SG	10 ⁵ Ps. aeruginosa 10 ⁵ E. coli	10 ⁵ Ps. aeruginosa 10 ⁵ E. coli	Çalışılmadı	A-B: Gram (-) basil, Gram (+) kok, difteroidler görüldü Lökosit görülmedi	A-B: Lökosit görülmedi	Üreme görülmedi	7,2
10. SG	10 ³ Ps. aeruginosa	10 ³ Ps. aeruginosa	10 ⁴ Ps. aeruginosa 10 ⁴ E. coli	A-B: Üreme görülmedi	A-B: Lökosit görülmedi	Üreme görülmedi	7,15
11. BC	10 ⁴ E. coli 10 ⁴ C. albicans	10 ⁴ E. coli	10 ⁴ E. coli C. albicans	A-B: Üreme görülmedi	A: PNL karakterli lökosit görüldü B: Lökosit görülmedi	Staf. aureus Katalaz (+)	13,7
12. SB	10 ⁵ K. pneumoniae	Üreme görülmedi	10 ⁵ K. pneumoniae 10 ⁴ E. coli	A: Gram (+) kok, Gram (-) basil ve koklar görüldü. Lökosit görülmedi. B: Bakteri, lökosit görülmedi.	A-B: Lökosit görülmedi	Üreme görülmedi	5,35
13. FT	10 ⁴ Pseudomonas spp	10 ⁵ Pseudomonas spp	Pseudomonas E. coli	A-B: Bakteri görülmedi Lökosit görülmedi	A-B: Lökosit görülmedi	Pseudomonas	23,1
14. Nİ	Proteus spp	Proteus spp	Proteus 10 ⁴ E. coli	A-B: Gram (+) kok, Gram (-) basiller görüldü. Lökosit görülmedi	A-B: Lökosit görülmedi	Üreme görülmedi	15,6
15. AA Sağ	10 ⁵ proteus spp	10 ³ proteus spp 10 ⁴ E. coli	Proteus E. coli	A: Gram (+) koklar, Gram (-) basiller görüldü. Tüm alanda 3-4 lökosit görüldü B: Bakteri, lökosit görülmedi	A: PNL karakterli lökosit görüldü B: Lökosit görülmedi	Çalışılmadı	16
16. AA Sol	10 ⁵ Proteus spp 10 ³ E. coli	10 ⁴ Proteus spp 10 ⁵ E. coli	Proteus E. coli	A-B: Gram (+) koklar, Gram (-) basiller, difteroidler görüldü. Lökosit görülmedi	A-B: Lökosit görülmedi	Çalışılmadı	16
17. Nİ	10 ⁵ Acinetobacter baumannii	10 ³ Acinetobacter baumannii	E. coli Acinetobacter baumannii	A: Bakteri, lökosit görülmedi B: Her alada 2-3 lökosit görüldü	A: Lökosit görülmedi B: PNL karakterli lökositler görüldü	Kontaminasyon	16
18. FT	Üreme olmadı	Üreme olmadı	Üreme olmadı	A-B: Bakteri görülmedi Lökosit görülmedi	A-B: Lökosit görülmedi	Gram (-) basil E. coli	17,6

sayılmış ve bulunan sayı, doku parçasına eklenen sıvı hacmi ile çarpılarak, gram olarak doku ağırlığına bölünüp, gram başına düşen bakteri sayısı hesaplanmıştır.

Yüzeysel sürüntü kültürleri: Laboratuara gönderilen yüzeysel sürüntü örnekleri de aynı (%5 koyun kanlı ve eozin metilen blue (EMB) (HiMedia, İndia) agara) besiyerlerine ekilerek klasik yöntemlerle kültürü yapılmıştır.⁵

Kan kültürü: Hastalardan eş zamanlı olarak alınan kan kültürleri otomatik kan kültür besiyerlerine ekilip (BD BACTEC 9050, UK) üreme olduğunda kanlı ve EMB agara pasajlanmıştır.

Bakteri tanımlaması: Üreyen bakterilerin tanımlanmasında klasik yöntemler ve/veya API identifikasyon sistemi (BioMérieux, Fransa) kullanılmış ve Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda agar disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiştir.⁶

İstatistiklerde "Likelihood Ratio ki kare testi", yüzeysel ve derin dokuda üreyen bakterilerin uyumu için yapılan değerlendirmede Kappa istatistiği kullanılmıştır.^{5,6}

BULGULAR

On dört hastanın 6'sı kadın, 8'i erkekti. Hastaların yaşları 46 ile 83 arasında değişiyordu (ortalama: 66). 14 hastadan 36 doku kültürü; 6 hastadan 9 sürüntü kültürü; ve 13 hastadan 16 kan kültürü alındı. Ayrıca bütün hastaların hemogram değerleri çalışıldı.

On dört hastanın bası yaralarının dereceleri 2. derece ile 4. derece arasında değişmekte idi. Hastaların 5'inde 2.derece, 6'sında 3.derece, 3'ünde 4.derece bası yarası mevcuttu. 12 hastanın bası yarası sakral, 2 hastanın trokanterik yerleşimliydi.

On dört hastanın bası yaralarının boyutları en küçüğü 3x4 cm, en büyüğü 10x20 cm olmak üzere farklılık göstermekte idi. Ağırlıklı olarak akıntı, kötü koku, kızarıklık, abse gibi enfeksiyon bulguları görüldü.

Hastaların 5'i SVO, 4'ü femur fraktürü, 3'ü vertebra fraktürü, 1'i Buerger hastalığına bağlı bacak amputasyonuna sekonder, 1'i kardiyak operasyona bağlı hipoksik iskemik ensefalopati nedeniyle yatağa bağımlı idi. 6 hastada diyabet, 4 hastada hipertansiyon diğer hastalıklara en sık eşlik eden hastalıklardı.

On dört hastadan alınan 18 derin ve 18 yüzeysel doku kültürü örneği, 13 hastadan alınan 16 kan kültürü

örneği, 6 hastadan alınan 9 sürüntü örneği analiz edildi.

Doku kültür sonuçları

Otuz altı cerrahi örneğin; 19'unda (%53) bir çeşit, 12'sinde (%34) en az iki çeşit bakteri izlenirken, 5'inde (%14) bakteri üremedi. 12 hastanın derin ve yüzeysel doku kültürlerinde aynı bakteriler üredi. Sadece 2 hastanın derin ve yüzeysel doku kültürlerinde farklı bakteriler üredi (Tablo 1). Başka bir deyişle 18 derin doku kültürü sonucunun 16'sında yüzeysel ve derin doku kültür sonuçları aynı idi. Derin ve yüzeysel doku kültürlerinde üreyen bakterilerin türü açısından yapılan istatistiksel çalışmada iki grup arasındaki fark anlamsızdı. Başka bir deyişle, derin ve yüzeysel doku kültürlerinde üreyen bakteriler tür açısından uyumluydu ($k=0.768$, $p<0,0001$).

Derin ve yüzeysel doku örneklerinde (n.36) toplam 13 çeşit bakteri elde edildi. Derin ve yüzeysel doku kültürlerinde, bakteri türü olarak en sık (10'ar örnekle) E. coli (%28) ve Pseudomonas aeruginosae (%28) tespit edildi. Proteus 6 örnekle (%17) ikinci sırada yer aldı. Klebsiella pneumoniae ve Candida albicans 3'er örnekle (%8) üçüncü sırada yer aldı. Bunları 2'şer örnekle (%6) Difteroid ve Acinetobacter baumannii takip etti.

Sürüntü kültür sonuçları

Hastaların 6'sından alınan 9 adet yüzeysel sürüntü örneğinin kültürünün 8'inde (%89) en az 2 bakteriyel çeşit pozitifliği saptandı (Tablo 2). Bunlar Mikrobiyoloji Bölümü'nce kontaminasyon olarak yorumlandı. 1'inde üreme olmadı. Üreme görülen 8 hastada toplam 6 çeşit bakteri tespit edildi: E. coli (6 örnek), Pseudomonas aeruginosa (2 örnek), Candida albicans (1 örnek), Klebsiella pneumoniae (1 örnek), Proteus (3 örnek), Acinetobacter baumannii (1 örnek)

Cilt florasında bulunan bakterilerden [Difteroidler, Alfa hemolitik streptokoklar, koagülaz negatif stafilkoklar ve yara sakral bölgedeyse enterik gram negatif bakterilerden (E. coli, Klebsiella spp, Proteus)] ikiden fazla çeşit ürediğinde cilt florası ve/veya gastrointestinal ile kontaminasyon olarak değerlendirilmekte ve patojen kabul edilmemektedir.

Kan kültür sonuçları

On üç hastadan alınan toplam 16 örneğin 5'inde (%31) bir çeşit; 3'ünde (%19) en az bir çeşit bakteri üremesi görüldü. 8'inde (%50) üreme görülmedi. Kan kül-

Tablo 2. Yüzeysel / Derin Doku ve Kan Kültürü Sonuçları

KÜLTÜR SONUÇLARI	Negatif	Monomikrobiyal	Polimikrobiyal	TOPLAM
Yüzeysel Doku	2	10	6	18
Derin Doku	3	9	6	18
Sürüntü Örneği	1	-	8	9
Kan Kültürü	8	6	2	16

türünde üreyen 5 çeşit bakteri Staphilococcus aureus, Enterococcus faecium, Enterococcus gallinorum, Pseudomonas ve E. coli idi. 8 kan kültür örneğinin ait olduğu kişilerin doku kültürleri ile karşılaştırma yapıldığında 7 örnekte doku kültürlerinde üreyen bakterilerden farklı mikroorganizmalar üredi. Sadece 1 hastada yüzeysel ve derin doku kültürü ile aynı biçimde kan kültüründe de Pseudomonas üredi (Tablo 1-2).

Hemogram sonuçları

On dört hastadan doku, sürüntü ve kan kültür örnekleriyle eşzamanlı alınan hemogram sonuçlarında özellikle beyaz kürenin durumu çalışmamız açısından değerlendirildi. 3 hastadan hemogram 2. kez farklı zamanda çalışıldı. Bu nedenle 14 hastadan 17 hemogram sonucu alındı. 5 hastanın beyaz küre değeri 10.000'in altında, 9 hastanın beyaz küre değeri 10.000'in üzerinde ve 3 hastanın beyaz küre değeri 20.000'in üzerinde idi. En düşük ve en yüksek beyaz küre değerleri 4.000 ile 23.000 arasında değişiyordu. Ortalama değer 13.000 idi.

Antibiyogram sonuçlarına göre antibiyoterapi: Sürüntü kültürlerinde en az 2 çeşit bakteri üremesi ve multibakteriyel üremenin kontaminasyon olarak değerlendirilmesi nedeni ile antibiyoterapide dikkate alınmadı.

Kan kültür sonuçlarına bakıldığında %50'sinde üreme olmadığı ve doku kültürleri ile korelasyon göstermediği, üreme olan %50 kan kültüründe ise, sadece 1 olguda doku kültürleri ve kan kültürleri arasında korelasyon olduğu görüldü. Bu nedenle antibiyoterapide dikkate alınmadı.

Son olarak derin ve yüzeysel doku kültürlerinde üreyen bakteriler açısından sadece 2 hasta dışında fark bulunmadı. Diğer 12 hastanın derin ve yüzeysel doku kültürlerinde aynı bakteriler üredi. Bütün bunlar göz önüne alındığında, hastaların derin ve yüzeysel doku kültürü antibiyogram sonuçlarına göre antibiyoterapileri planlandı.

MİKROBİYOLOJİ BULGULARI:

1. Yüzeysel doku örneği boyamasında lökosit görülmesiyle üreme olması arasındaki ilişki:

Yüzeysel dokunun Gram ve Giemsa boyalı preparatlarının incelemelerinde, lökosit görülen 2 örneğin her ikisinde (%100), lökosit görülmeyen 14 kişiden 12 (%86)'sinde kültürde üreme olmuştur. Ancak yapılan istatistikî değerlendirmede aralarında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sonuca göre yüzeysel dokuda üreme sıklığı lökosit pozitif örneklerde daha fazla görülse de bu yüksekliğin anlamlı olmadığı bulunmuştur ($\chi^2=1,07$, $p = 0,300$).

2. Derin doku örneği boyamasında lökosit görülmesi ile üreme olması arasındaki ilişki:

Derin dokunun Gram ve Giemsa boyalı preparatlarının incelemelerinde lökosit görülen 3 örneğin 3 (%100)'ünde (2 si E.Coli, 1'i Acinetobacter baumannii), lökosit görülmeyen 15 örneğin 12 (%80)'sinde bakteri üremesi saptanmıştır. Yapılan istatistikî incelemede aralarında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($\chi^2=1,208$, $p = 0,272$).

Sonuç olarak lökosit üreyenlerin sayısının azlığı bu karşılaştırmalarda statiksel olarak anlamlı gösterilmiştir. Ancak klinik açıdan lökosit görülenlerde üreme eğiliminin daha fazla olduğu gözlenmektedir.

3. Yüzeysel doku kültüründe üreyen bakteri türlerinin dağılımı:

BAKTERİ TÜRÜ	Sayı	Yüzde (%)
Pseudomonas	5	24
Klebsiella pneumoniae	2	10
Difteroid	2	10
E.coli	4	19
Proteus	3	14
Acinetobacter	1	5
Candida	2	10
Enterococcus	1	5
Toplam üreyen bakteri sayısı	21	100

4. Derin doku kültüründe üreyen bakteri türlerinin dağılımı:

BAKTERİ TÜRÜ	Sayı	Yüzde (%)
Pseudomonas	5	24
Klebsiella pneumoniae	1	5
Difteroid	1	5
E.coli	6	29
Proteus	3	14
Acinetobacter	1	5
Candida	2	5
Flavimonas	1	5
Enterococcus	1	5
Toplam üreyen bakteri sayısı	21	100

5. Yüzeysel dokuda lökosit görülmesi ile bakteri türleri dağılımı arasındaki ilişki:

Lökosit görülmeyen 14 kişinin 3 (%21)'ünde Pseudomonas aeruginosa üremiştir. Buna rağmen yüzeysel dokuda lökosit görülmesiyle bakteri tür dağılımı arasında ilişki saptanmamıştır ($p=0,603$). Bu durumun pseudomonas enfeksiyonlarının genellikle immün düşkün konakta fırsatçı enfeksiyonlar yapmasıyla ya da bakterinin virulans özelliği olan lökositin enzimi ile ilgili olduğu düşünülmüştür (7)

6. Derin dokuda lökosit görülmesi ile bakteri türleri dağılımı arasındaki ilişki:

Derin dokuda lökosit görülmesiyle bakteri tür dağılımı arasında ilişki saptanmamıştır ($p=0,598$).

7. Yüzeysel ve derin dokuda üreyen bakterilerin uyumu:

Yüzeysel ve derin dokuda üreyen bakteri türlerinin dağılımında kappa uyum testi yapıldı. Genellikle her ikisinde de aynı bakteri ürediği görüldü. Derin ve yüzeysel dokularda üreyen bakteriler uyumlu bulundu. ($k=0,768$, $p< 0,0001$). Buna göre örnek sayısı az olmasına rağmen yüzeysel dokudan alınan biyopsi örneklerinin derinden alınanlardan farklı olmadığı, yüzeysel doku kültürlerinin yeterli olduğu görüldü.

TARTIŞMA

Bası yaralarında doku kültür örneklerinin sürüntü örneklerinden daha güvenilir olduğu bilinmektedir. Yüzeysel sürüntü örneklerinde kutanöz floradan kaynaklanan kontaminasyon sıklıkla görülürken, derin doku kültürlerinden elde edilen kültür sonuçları daha güvenilir ve doğru antibiyotik seçimi için gerçekçi veri oluşturur(1). Bası yaraları bazen kemik dahil derin planlara inebilmektedir; bu nedenle açık kemik dahil, derin doku kültürü osteomyelit tanısı ve tedavisi için her zaman alınmalıdır (2,3). Yüzeysel alınan sürüntü örnekleri derin planda üreyen bakterilerin tanımlanmasında yetersiz kalmakla birlikte, doğru ve etkin antibiyotik tedavisini de engellemektedir (2). Literatürde de bunu kanıtlayan çalışmalar mevcuttur. (4)

Bu çalışmada 36 cerrahi doku örneğinin 5'inde (%14) negatif kültür elde edilmiştir. Bu negatif sonuçlar, genellikle cerrahi debridman sonrası alınmış olan örnekleredir. Kültür sonucu pozitif olan 31 cerrahi örnekte (%86) bir veya iki çeşit bakteriyel tür, örnek alınmadan önce polyvidone iyot solüsyonu ve %0,9 izotonik sodyum klorür solüsyonu ile doğru ve iyi bir temizlik yapıldığının, başka bir deyişle cilt florası ile kontaminasyon olmadığını göstermektedir.

Çalışmamızda doku kültür örneklerinin yüzeysel veya derinden elde edilmesi arasında statiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Aynı hastadan elde edilen, 18 derin 18 yüzeysel doku kültüründen 16 derin 16 yüzeysel doku örneklerinde aynı ajanlar üremiştir (Tablo 1). Derin ve yüzeysel doku kültürleri üreyen bakteriler açısından karşılaştırıldığında, iki hasta dışında bir fark görülmemiştir. Bir hastada yüzeysel dokuda K. Pneumoniae üremiş, derin dokuda ise üreme olmamıştır. Diğer hastada ise yüzeysel dokuda gram (-) ve gram (+) Basiller ve Gram (+) koklar, derin dokuda ise E. coli ile Flavimonas gibi bakteriler üremiştir. Bu sonuç bize doku kültürleri yüzeysel veya derin plandan alınsa da aynı sonucu verdiklerini göstermiştir. Diğer yandan 6 hastadan elde edilen 9 sürüntü kültürünün 8'inde çok sayıda mikro-

organizma üremesi nedeniyle kontaminasyon olarak değerlendirilmeleri, sürüntü kültürlerinin patojen ajan tespitinde az güvenilir olduklarını göstermektedir.

Bası yarası enfeksiyonunda E. coli ve Proteus'un sık görülmesi, enfeksiyon kaynağının ürogenital ve sindirim sistemi ile ilişkili olduğunu gösterir (1). Acinetobacter baumannii, Flavimonas gibi bakteriler az sıklıkla izole edilmiştir. Acinetobacter baumannii hastane ortamında çeşitli yüzeysel dokularda bulunabilen ve hastane enfeksiyonlarına neden olan bir bakteri olarak bilinir (9). Flavimonas genelde kateterlerde izole edilen bir bakteri çeşididir (10-11).

Derin ve yüzeysel doku kültürleri sonuçları ile sürüntü kültürlerinin karşılaştırılmasında 9 sürüntü örneğinde derin ve yüzeysel kültürde üreyen bakteriler dışında çevre dokudan gastrointestinal ve cilt florası ile kontaminasyon nedenli çok sayıda E. Coli, Proteus, S. Aureus gibi diğer bakterilerin de ürediği gözlemlendi (8).

Çalışmamızda kan kültürleri, doku kültürleri alındığı sırada ve tek bir kez alınmıştır. Literatürde ateşli dönemlerde en az 3 kan kültürü alınması gerektiğini öneren yayınlar da mevcut olmakla birlikte bizim yaptığımız gibi ateşsiz dönemde tek bir kan kültürü örneğini çalışanlar da vardır (12). Kan kültür sonuçları ile yüzeysel ve derin doku kültürleri karşılaştırıldığında 5 hastanın kan kültüründe, derin ve yüzeysel doku kültürlerinde üreyen bakterilerden farklı mikroorganizmaların ürediği görülmüştür. Sadece 1 hastada yüzeysel ve derin doku kültürü ile korele olarak kan kültüründe de Pseudomonas ürediği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada hastalardan eş zamanlı alınan doku kültür sonuçları ile kan kültür sonuçları arasında üreyen patojenlerin tipi açısından korelasyon tespit edilememiştir.

Sonuç olarak klinik olarak yara enfeksiyonundan şüphelenildiğinde ya da tanı konulduğunda doğrulamak için kültür alınmalıdır. Bakteriyel kültürler antimikrobiyal tedavi seçiminin belirlenmesi yanında, kolonizasyon ve enfeksiyonun ayırımında da yararlıdır. Bununla birlikte, her yaranın bakteriler ile birlikte mantar, protozoa ve virüs gibi diğer mikroorganizmalarla kontamine olabileceği her zaman akılda tutulması gereken bir konudur. Altın standart doku kültürü alınmasıdır, fakat nadiren uygulanmaktadır. Çünkü zahmetli olabilir, invaziv bir işlemdir ve yara yatağı ve iyileşmesinde bozulmaya neden olabilir. Gram doku kültüründe $1,0 \times 10^6$ kob mikroorganizma olması derin kompartmanlarda enfeksiyon olduğunun iyi bir göstergesidir. Bakteri sürüntü kültürü invaziv bir işlem değildir, fakat sıklıkla etkisiz, yanılmaya yol açan, özellikle kronik yaralarda güvenilirliği düşük bir yöntemdir. Bu yöntemde bakteri sayısı semikantitatif olarak belirlenir. Bu amaç için Levine yöntemi en iyi yöntem olarak kabul görmüştür. Öncelikle yara antiseptik olmayan steril bir solüsyon ile temizlenmelidir. Kültür çubuğu steril serum fizyolojik (SF) ile nemlendirildikten sonra yara yatağında 1

cm²'lik alanda yeterince bastırılarak ve 360° döndürülerek alınmalı ve sonra taşıyıcı besiyerine yerleştirilmelidir. Eğer Gram boyama yapılacaksa aynı şekilde ikinci bir örnek alınmalıdır. Sürüntü kültüründe dörtten fazla bakteri üremesi ya da çok yoğun üreme olması sıklıkla dokunun gramında yaklaşık 105 kob bakteri olmasına denk gelmektedir. Önerilen diğer bir teknik, yüzeysel ek-südanın debride edilerek steril SF ile durulanması sonrası yine temiz ülser zemininden kültür alınmasıdır. Bu teknikte anahtar, püvy ve artık maddelerden kaçınarak verilen sıvının yaranın derin canlı doku bölgelerinde toplanmasıdır (13).

Bu çalışmada hastalardan eş zamanlı alınan doku kültür sonuçları ile kan kültür sonuçları arasında üreyen patojenlerin tipi açısından korelasyon tespit edilememiştir. Bunun nedeni ise, hastaların genel durumlarının bozuk olması dışında ek olarak, diabetes mellitus, ensefalopati, kardiyak problemler gibi hastalıkların bulunması ve diğer sistemik enfeksiyonlara zemin hazırlamasıdır.

Toplam 9 yüzeysel sürüntü kültür örneğimizin 8'inde polimikrobiyal üreme izlenmesi ve bunların mikrobiyoloji bölümünce kontaminasyon olarak yorumlanmaları, üreyen patojenlerden hangisinin enfeksiyondan majör sorumlu olduğunu anlamada zorluk yaratmaktadır. Böyle sonuçlardan sonra başlanacak antibiyotikler gereksiz yere geniş spektrum olmak zorundadırlar. Bu durum da başka majör bir sorun olan antibiyotiklere direnç gelişmesinde bir faktör olarak durmaktadır. Bu da bize doku kültürlerinin, ister yüzeysel ister derin planda alınsın sürüntü kültürlerinden daha güvenilir sonuçlar verdiğini göstermektedir. Bu çalışmada, yüzeysel veya derin planda yapılan doku kültürü sonuçları, anlamlı ve değerli bulunmuştur.

On dört astanın tedavileri, doku kültür sonucuna göre antibiyotik kullanımı yanı sıra, nekrotik dokuların debridmanı ve mevcut defektlerin fleplerle kapatılması şeklinde gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Heym B, Rimareix F, Lortat-Jacob A. Bacteriological investigation of infected pressure ulcers in spinal cord-injured patients and impact on antibiotic therapy. Spinal Cord 2004;42:230-4
2. Montgomerie JZ. Infections in patients with spinal cord injuries. Clin Infect Dis. 1997;25:1285-90.
3. Schifman J, Golinko MS, Yan A, Flattau A, Tomic-Canic M, Brem H. Operative Debridement of Pressure Ulcers. World J Surg. 2009;33:1396-402
4. Bauer JD. Pressure sores. In: Beasley RW, Aston SJ, Bartlett SP, Gurtner GC, Spear SL (eds). Grabb and Smith's Plastic Surgery. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007:722-9.
5. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı: Bakteri sayma yöntemleri. 3.baskı. Ankara: Şafak Matbaası, 2002: 131-44.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (Çeviri Ed: D Gür): Antibiyotik Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları; Onsekizinci Bilgi Eki, M100-S18, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2008).
7. Washington CW, Stephen A, William MJ, Elmer WK, Paul CS, Gary P, Gail BW. The nonfermentative Gram negative basils. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2006:316-21.
8. Nigel J. Livesley and Anthony W. Chow, Infected Pressure Ulcers in Elderly Individuals, Clinical Infectious Diseases, Vol. 35, No. 11(Dec. 1, 2002), pp. 1390-6
9. Zhou QT, He B, Yao B, Liu ZY, Zhang J. Intrahospital dissemination of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii and analysis of the infected patients. Beijing Da Xue Xue Bao. 2011 Apr 18;43(2):213-21.
10. Qian KQ, Wang ST. Infection caused by Flavimonas oryzihabitans: Chin Med J. 2001 Apr;114(4):394-8.
11. Lin RD, Hsueh PR, Chang JC, et al. Flavimonas oryzihabitans bacteremia: clinical features and microbiological characteristics of isolates. Clin Infect Dis. 1997 May;24(5):867-73.
12. Riedel S, Bourbeau P, Swartz B, et al. Timing of specimen collection for blood cultures from febrile patient bacteremia. J. Clin Microbiol. 2008 Jul;46(7):2475.
13. Fleck CA. Identifying infection in chronic wounds. Adv Skin Wound Care 2006 Jan;19:1.

Dr. Arzu TÜRKSEVEN

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi

Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Düzce

E-posta: arzuturkseven@gmail.com