



BİRLİKTE TARTIŞALIM

Diyabetik Ayak Konseyleri Deneyimi

**DİYABETİK AYAK ENFEKSİYONLARINDA
MİKROBİYOLOJİK YAKLAŞIM**

Doç.Dr.Mustafa ÖZYURT

Tıbbi Mikrobiyoloji Srv.

GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, İSTANBUL

25.05.2012

17.00-18.30

DİYABETİK AYAK ENFEKSİYONLARININ MİKROBİYOLOJİK TANISI NEDEN ÖNEMLİDİR ??

Multi disiplinler olarak klinik tanı ile birlikte

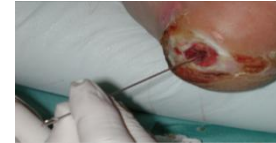
Hızlı ve doğru mikrobiyolojik tanıda,

Ortak Hedef ;

**“infeksiyonu durdurarak
ilerleyici doku hasarını önlemek”**

MİKROBİYOLOJİK ÖRNEKLEM ÖNCESİ YARA İLE İLGİLİ ÖN DEĞERLENDİRMELER

- Hastaya ait daha önce çalışılmış bir kültür sonucu varmı ?
 - *Doku/aspirasyon/kemik biyosisi/sürüntü ?*
- Yara yerinin derinliği parsiyel mi, yoksa tam kat mı? Kemik tutulumu var mı?
 - *Derinlik >3 cm ? Osteomyelit riski ?*
- Yara enfekte mi? koku , gaz ve nekroz varmı ?
 - *Selülit,*
 - *yumuşak dokuda apse,*
 - *fasia altına yayılmış kas, tendon, eklem ve/veya kemik tutulumu,*
 - *gangren*
- Ülser/lezyon 2 cm'den büyük mü?
 - *Osteomyelit riski ?*



KLİNİĞE GÖRE MUHTEMEL ETKENLER

KLİNİK	MUHTEMEL ETKENLER
Selülit (açık yara yok)	Sıklıkla monomikrobiyal S.aureus, ve Beta hemolitik streptokoklar
Enfekte ülser (antibiyotik kullanımı yok)	Sıklıkla monomikrobiyal S.aureus, ve Beta hemolitik streptokoklar
Kronik enfekte ülser (öncesinde antibiyotik kullanımı var)	Genellikle polimikrobiyal S.aureus, ve Beta hemolitik streptokoklar Gram(-) enterik basiller Anaerob bakteriler
Masere ülser	Genellikle polimikrobiyal Diğer mikroorganizmalar + P.aeruginosa
İyileşmeyen ülser (uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı)	Dirençli mikroorganizmalar Aerop Gram (+) kok (S.aureus, KNS, enterokoklar) Difteroit basiller Gram (-) enterik basiller Pseudomonas spp Acinetobacter spp. Mantarlar
Geniş nekroz veya gangren	Genellikle polimikrobiyal Aerop Gram (+) kok (S.aureus, KNS, enterokoklar) Gram (-) enterik basiller Pseudomonas spp Acinetobacter spp. Anaerob bakteriler(Bacterioides, Clostridiumlar, Anaerob koklar)

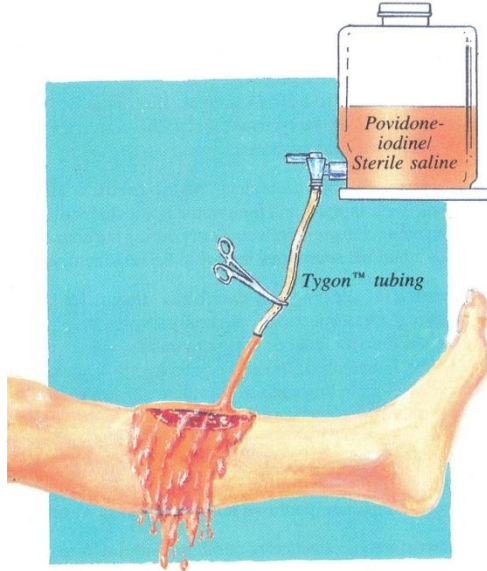
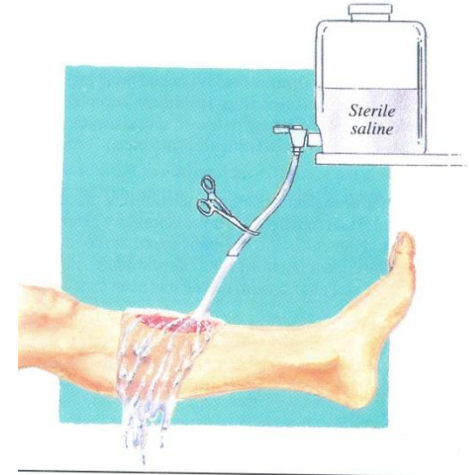
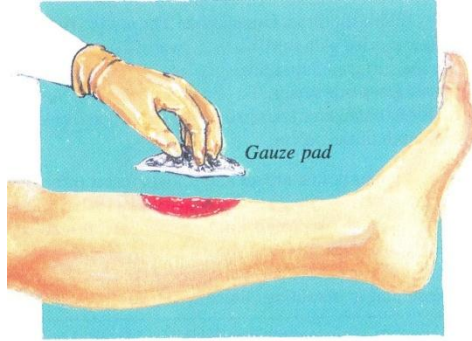
Mikrobiyolojik İşlemler

- Yara **debride** edildikten sonra ;
Yoğun **SF ile** yıkama yapılarak **dekontaminasyonu** sağlanır
- Doku kültürü amaçlı **örnekleme yapılarak** seri olarak **laboratuvara** ulaştırılır
- Doku kültürü defterine **hasta kaydı** yapılır
- Aseptik koşullarda **dokunun darası** alınır
(**örnekli kap darası** - **örneksiz kap darası=dokunun gramajı**)
- Doku **homojenizasyonu** (**1 ml broth içerisinde**) yapılır, **mikroskopik preparat** hazırlanır
- Uygun besiyerine **kafes tarzında 0.1 ml dilüsyonlu ekim** (**1/10-1/1000**) yapılır
- Uygun atmosferik koşullarda **inkübasyon** gerçekleştirilir
- Yoğun üremelerde;
plakta 50-300 koloni sayımının uygun olduğu dilüsyonda sayım yapılır
- Doku ağırlığı dikkate alınarak **sonuç**, etkene spesifik **duyarlılık testi ile birlikte CFU/gram doku** olarak raporlanır

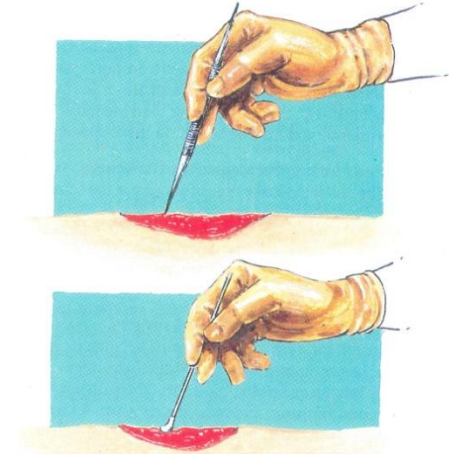


MİKROBİYOLOJİK ÖRNEKLEME ÖNCESİ DEKONTAMİNASYON

Steril
SF



50:50
sulandırım



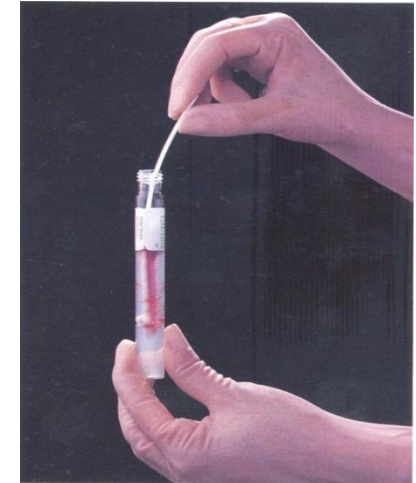
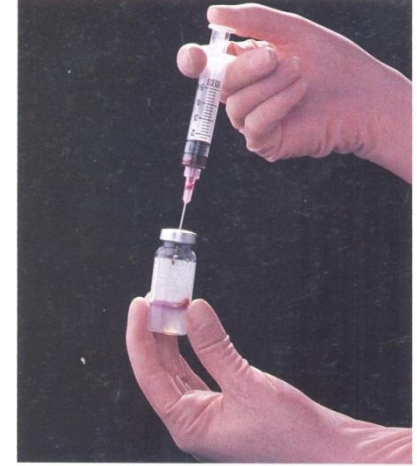
MİKROBİYOLOJİK ÖRNEKLEME

I. Kültür (Kantitatif)

- Derin Doku biyopsisi veya Ülser tabanın küretasyonu
- Pürülan materyalin aspirasyonu
- Kemik biyopsisi
- Sürüntü kültürü (**önerilmez!!!**)
 - En az **iki sürüntü** örneği

II. Mikroskopi

- **Gram** ve **metilen mavisi** boyamaları



KÜLTÜR ÖRNEKLEMESİ



Sürüntü
(önerilmez!!!)



Doku-biyopsi
örneği



Aspirasyon



Kemik biyopsisi

- Powlson A.S., Coll A.P.JAC 2010;65(Suppl 3):iii3 –9

UYGUN OLMAYAN ÖRNEKLER

- **Formalin** içerisinde gönderilenler
- Transport süresi **1 saati geçenler**
- **Uygun olmayan transport** ortamında veya koşullarda gönderilen örnekler
- **Yetersiz** miktar veya sayıda yapılan örneklemeler

ÖRNEK KAYDI VE RAPOR

GATA HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ KOMUTANLIĞI
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ SERVİS ŞEFLİĞİ
DOKU KÜLTÜR TAKİP DEFTERİ

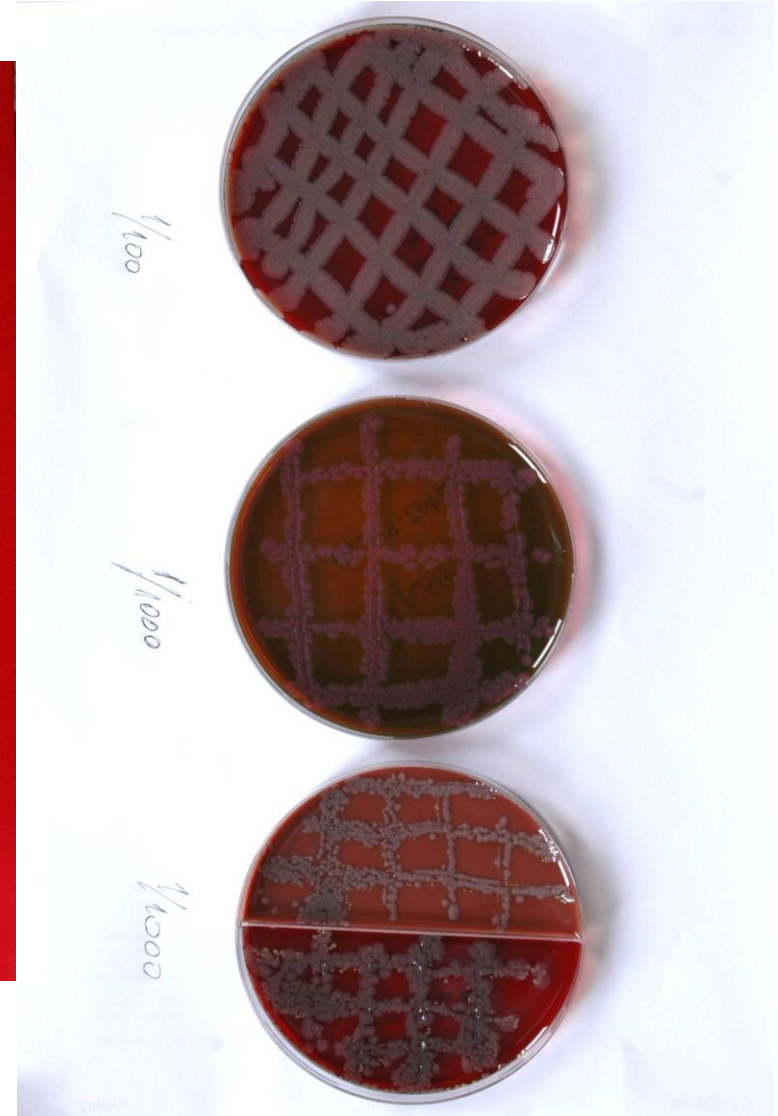
SIRA NO	TARİH	ADI SOYADI	HASTA NO	SERVİS	MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI İNCELEMELERİ											
					ÖRNEK KAYIT BİLGİLERİ					RAPOR TARİHİ VE SONUÇ						
					ÖRNEK	BOYALI İNCELEME GRM MM GMS EZN ÇM LPM	KÜLTÜR VASATI	DOKU MİKTARI (mg)	KOLONİ SAYISI			1 Gram Dokuda	RAPOR TARİHİ	ÜREME BAKTERİ/FUNG		
				0,1 ml DİREKT EKİM	DİLÜSYON											
									1/10	1/100	1/1000					
58	12.12.2011		669823	Ortopedi	DERİN DOKU	Gram boyama	KKA	✓						20.12.2011	1.).....	
					YÜZEYEL DOKU	H.S. 1-2	EMB	✓					2.).....			
					BIYOPSİ KÜLTÜRÜ (Kemi)	Kökler pırdı.	THIO	✓	213				3.).....			
					ASPIRASYON MAYI	Bakteri varlığı	ANKA	✓					DÜŞÜNCELER:			
					DİĞER (...Kemi)	pişme reaksiyonu	SDA	✓								
59	20.11.2011		674086	Plastik Cerrahi	DERİN DOKU	Gram boyama	KKA	✓	116				22.10.2011	1.).....		
					YÜZEYEL DOKU	H.S. 3-4 lsa	EMB	✓						2.).....		
					BIYOPSİ KÜLTÜRÜ	Gram boyama. Bakteri	THIO	✓						3.).....		
					ASPIRASYON MAYI	gibi	ANKA	✓						DÜŞÜNCELER:		
					DİĞER (...Bakteri)		SDA	✓								
60	20.11.2011		671496	Dış Servis	DERİN DOKU	Gram Boyama:	KKA	✓	139	>100	>1000	>1000	650	46x10 ⁶	22.10.2011	1.) P. aeruginosa
					YÜZEYEL DOKU	X100 büyüteç	EMB	✓						2.) M. RSA		
					BIYOPSİ KÜLTÜRÜ	H.S. 10-12 PMNL	THIO	✓						3.)		
					ASPIRASYON MAYI	Gram boyama	ANKA	✓						DÜŞÜNCELER:		
					DİĞER (...Doku)	Gök sayı ve gram (+) ile	SDA	✓								

KISALTMALAR:

(KKA:Koyun Kanlı Agar EMB:Eozin Metilen Mavisli Besiyeri ANKA: Anaerob Kanlı Agar SDA: Sabouraud Dekstroz Agar THIO:Tiyoglukat Buyyonu GRM: Gram boyama MM:Metilen Mavisli GMS:Giemsa EZN:Erlich-ziehl Neelsen boyama ÇM: Çini mürekkebi LPM:Laktofenol Pamuk Mavisli)

Bir gram dokudaki bakteri sayısı hesaplanırken kullanılacak formül: Koloni sayısı X Dilüsyon oranı (10² veya 10⁴ kez gibi) X 10 (Her plağa 0.1 ml ekilmesinden dolayı) / Dokunun ağırlığı.

Doku Örneklerinde Kantitatif Ekim



KÜLTÜR DEĞERLENDİRMELERİ

KANTİTATİF DOKU KÜLTÜRÜNDE BAKTERİ SAYISI (CFU/gr doku) HESAPLAMA*

(İnfeksiyon yoğunluğu için kriter ≥ 100.000 CFU/gram doku)

PLAKTAKİ KOLONİ SAYISI x TÜP DİLÜSYON ORANI

$$\text{BAKTERİ SAYISI (CFU)} = \frac{\text{PLAKTAKİ KOLONİ SAYISI} \times \text{TÜP DİLÜSYON ORANI}}{\text{DOKUNUN AĞIRLIĞI (GRAM)}} \times 10 \text{ (dilüsyon faktörü)}$$

SÜRÜNTÜ KÜLTÜRLERİNDE KANTİTATİF DEĞERLENDİRME**

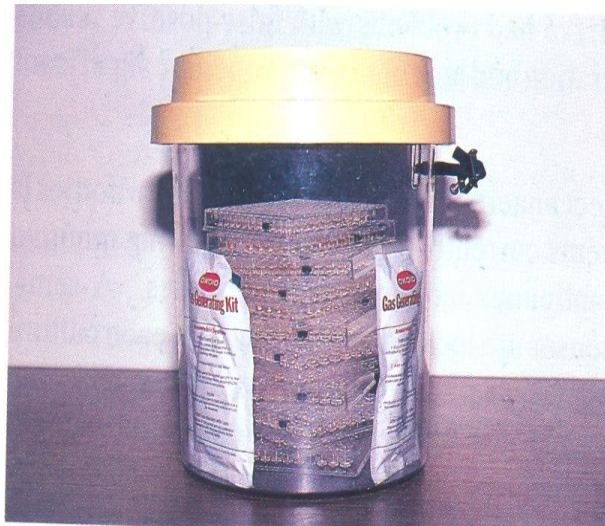
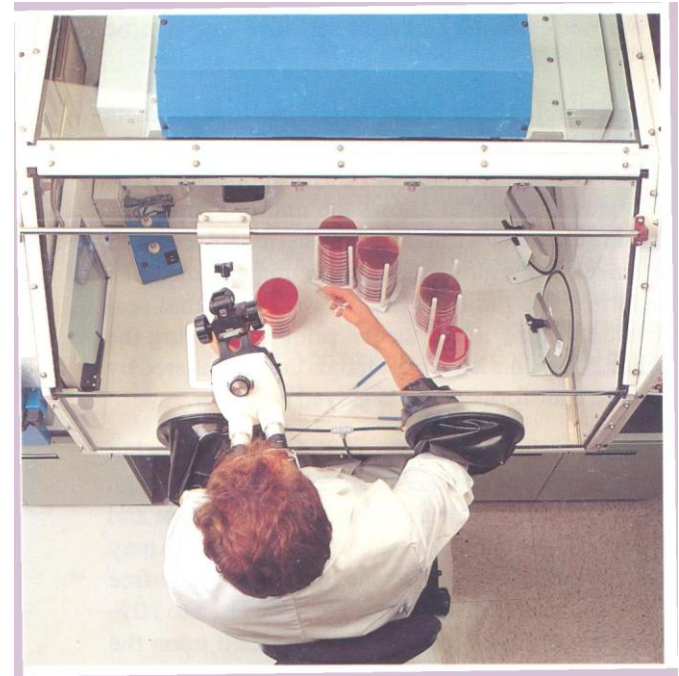
Primer ekim alanı	≤ 10 CFU	NADİR
Primer ekim alanı	> 10 CFU	AZ YOĞUN
İkinci ekim alanı	> 10 CFU	ORTA YOĞUN
Üçüncü ekim alanı	> 10 CFU	YOĞUN



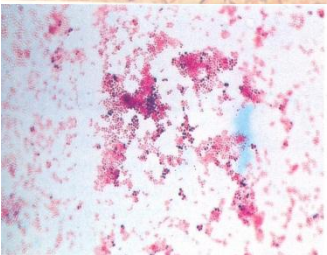
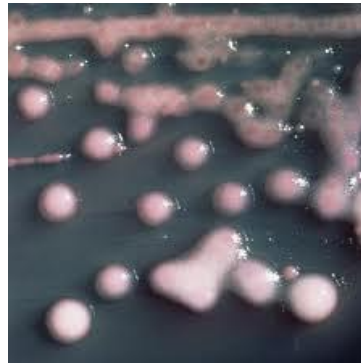
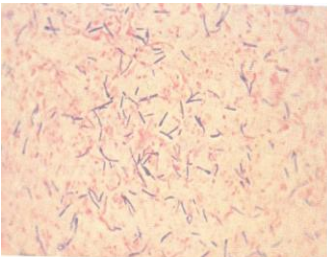
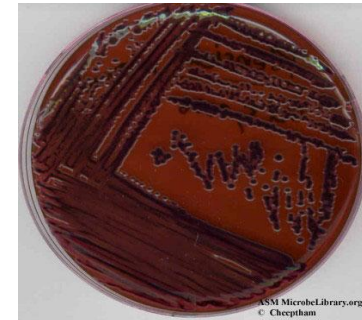
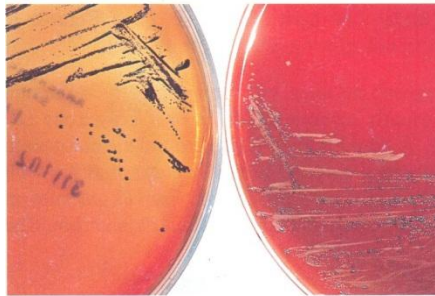
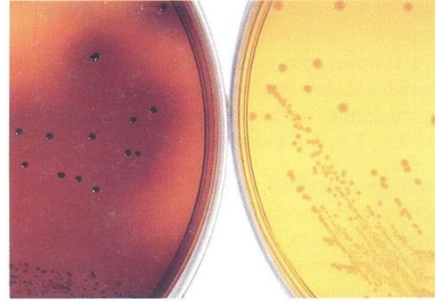
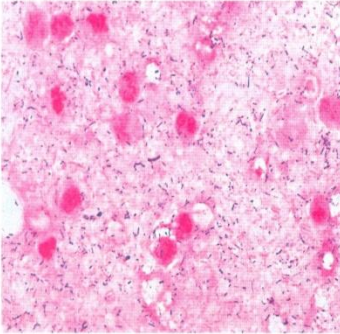
* Mary K.York: quantitative cultures of wound tissues, p3.13.2. In : Lynne S.Garcia (ed),3rd edition Clinical Microbiology Procedures Handbook. ASM,Wash.D.C.,2010

**Matkoski C., Sharp SE.,Kiska DL.:Evaluation of the Q score and Q234 Systems for Cost-Effective and Clinically relevant interpretation of wound cultures. Journal of Clinical Microbiology, May 2006, 44(5), p1869-1872

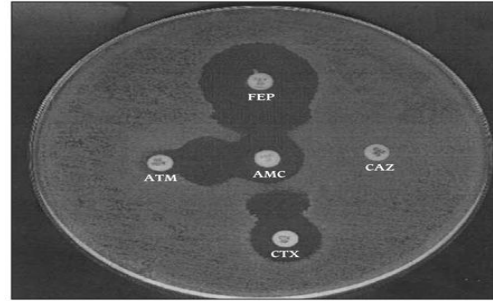
İZOLASYON



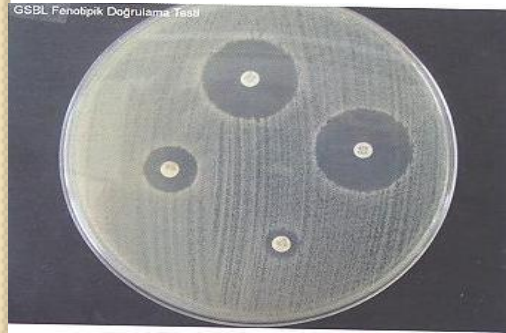
KÜLTÜR VE MİKROSKOPİ



in-vitro Betalaktamaz, Karbapenamaz aktivitesi ve direnç taraması



Resim 1. GSBL Pozitif Olarak Değerlendirilen Bir *K. pneumoniae* Suşu.



Gür D.:Yeni direnç mekanizmaları ve Rutin in vitro testlerin kliniğe yansması: son öneriler. *İnfeksiyon dünyası*, sayfa 30-45, 24 Mart 2012,Ankara

GATA HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ SERVİSİ
SONUÇ RAPORU

ADI SOYADI : M.M
BÖLÜM : DENİZ SUALTI HEKİMLİĞİ
TARİH : 20.04.2011
ÖRNEK NO : 671496
ÖRNEK : **DOKU KÜLTÜRÜ**
ÜREME RAPORU : *Pseudomonas aeruginosa , Metisiline Dirençli S.aureus (MRSA)*
KOLONİ SAYISI : **4.610.000 CFU/gr**
MİKROSKOPİ : *x100 büyütme, H.S. 10-12 PMNL, yoğun gram negatif basil ve gram pozitif kok morfolojisine rastlandı*

ANTİBİYOTİK DUYARLILIK SONUÇLARI:

P. aeruginosa

• MEZLOSİLİN	HASSAS
• PİPERALİSİN	HASSAS
• TİKARLİSİN	HASSAS
• TİKAR /KLAVUL	HASSAS
• SEFOP/SULBAK	HASSAS
• AZTRONAM	DİRENÇLİ
• GENTAMİSİN	HASSAS
• AMİKASİN	HASSAS
• TOBRAMİSİN	HASSAS
• NETİLMİSİN	HASSAS
• SEFTAZİDİM	DİRENÇLİ
• SEFEPİM	DİRENÇLİ
• MEROPENEM	DİRENÇLİ
• İMİPENEM	DİRENÇLİ
• SİPROFLOKSASİN	HASSAS

MRSA

• OKSASİLİN	DİRENÇLİ
• SEFOKSİTİN	DİRENÇLİ
• PENİSİLİN	DİRENÇLİ
• VANKOMİSİN	HASSAS
• TEİKOPLANİN	HASSAS
• LİNEZOLİD	HASSAS
• ERİTROMİSİN	DİRENÇLİ
• KLİNDAMİSİN	DİRENÇLİ
• TETRASİKLİN	DİRENÇLİ
• Kloramfenikol	HASSAS
• TMP/SXT	DİRENÇLİ
• LEVOFLOKSASİN	HASSAS
• RİFAMPİN	HASSAS
• GENTAMİSİN	DİRENÇLİ



TEŞEKKÜRLER