



Diyabetik Ayak ve Kronik Yarada Mikrobiyolojik Tanı

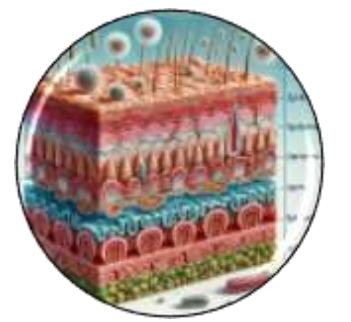
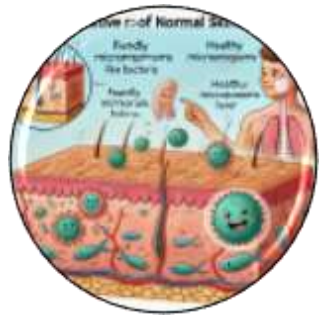
Dr. Serpil GENÇ

KSBÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD

Şubat, 2025

Kütahya



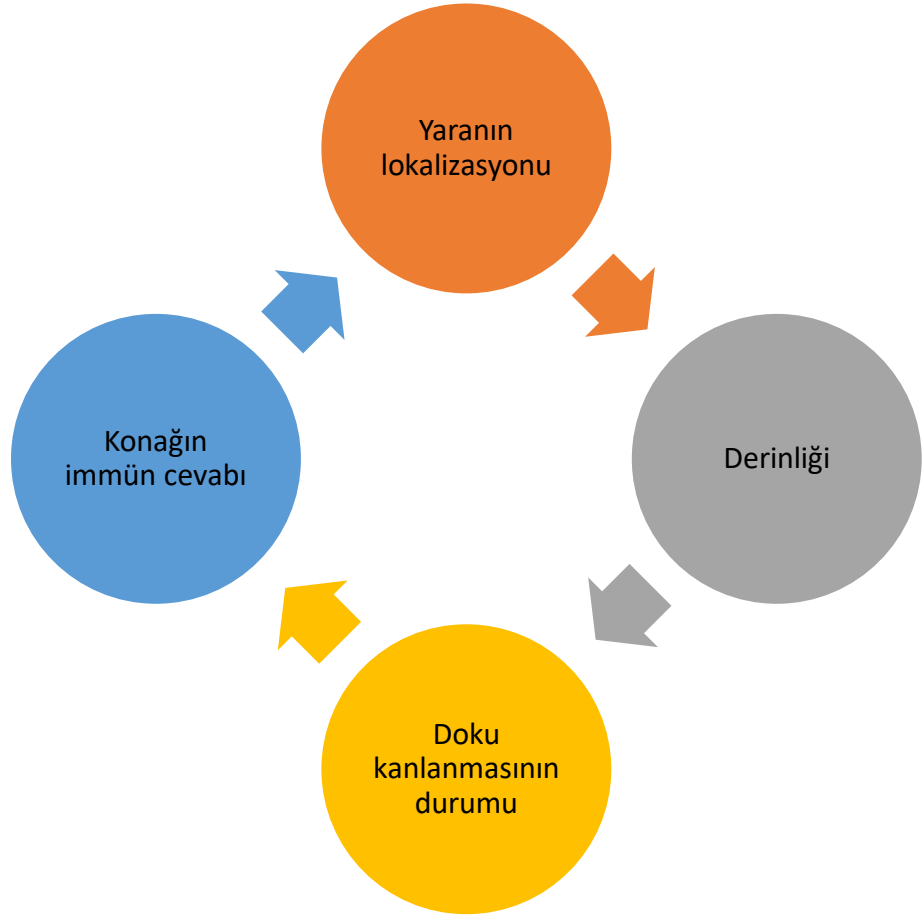


Kronik yara ??

Cilt bütünlüğü ve normal cilt florası invaziv mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlara karşı önemli bir koruyucu bariyerdir.

Kronik yarada anjiyogenesis, innervasyon ve/veya hücresel göçün bozulması gibi pek çok sebebe bağlı olarak anatomik ve fonksiyonel bütünlük sağlanamaz

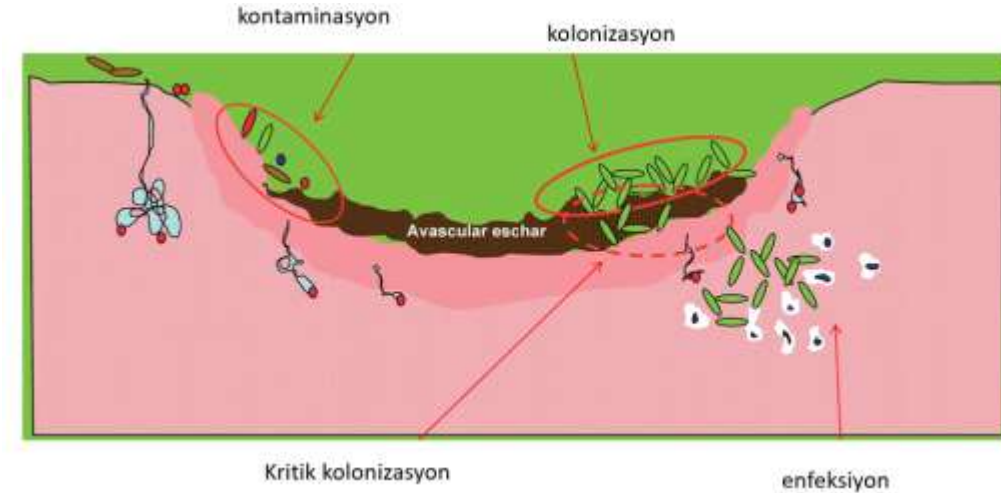
İyileşme sürecinin biyolojisi oldukça karmaşık olup, iyileşmeyi engelleyen veya geciktiren en önemli sebep **enfeksiyondur**.



✓ Tüm yaralar, mikroorganizmalar tarafından kolonize edilir ve mikroorganizma çeşitliliği her yarada farklılık göstermektedir.

Kronik yara enfeksiyonlarını değerlendirirken, bakterilerle yara ilişkisini ortaya koyan üç durumun ayrımı önemlidir

	Bakteri varlığı	Bakteri çoğalması	Doku hasarı
Kontaminasyon	+	-	-
Kolonizasyon	+	+	-
Kritik Kolonizasyon	+	+	-
Enfeksiyon	+	+	+



Konağın bağışık yanıtı enfeksiyonu engellemeye çalışır.

Kronik yara enfeksiyonlarının yönetiminde tüm süreç bir ekip işi olup, uygun (aerobik/anaerobik) kültür isteminin yapılarak, örneğin doğru şekilde alınması ve laboratuvara iletilme sürecini içeren preanalitik süreç,

Mikrobiyoloji uzmanlarının laboratuvarında örneğin kabulü ve uygun şekilde işlenmesinden kültürlerin değerlendirilerek sonuç raporunun düzenlenmesine kadar yönettiği analitik ve post-analitik süreçler çok önemlidir

Diyabetik Ayak Yarası ve İnfeksiyonunun Tanısı, Tedavisi, Önlenmesi ve Rehabilitasyonu: Ulusal Uzlaşma Raporu, 2024

Diagnosis, Treatment, Prevention, and Rehabilitation of Diabetic Foot Ulcers and Infections: Turkish Consensus Report, 2024

Ayten Kadanalı^{1,2}, Neşe Saltoğlu^{1,3}, Öznur Ak^{1,4}, Şamil Aktaş^{5,21}, Fatma Aybala Altay^{1,3,3}, Taner Bayraktaroğlu^{6,22}, Nilgün Bek^{7,23}, Uğur Anıl Bingöl^{8,24}, Birce Buturak-Küçük^{9,25}, Merve Çayırli-Güner^{10,26}, Selda Çelik^{10,26}, Bülent Ertuğrul¹¹, Gaye Filinte^{11,27}, Nermin Olgun^{12,28}, Moumperra Chral Oglou¹², Rağit Tahir Ögüt^{13,29}, Emre Özker^{13,29}, Adil Polat^{14,29}, Serpil Salman²², Gizem Sencer^{15,26}, Serkan Sürme^{1,34}, Alper Şener¹⁵, Zeynep Oşar Siva^{1,30}, Hakan Uncu^{16,27}, Derya Yapar¹⁷, Erdiç Yavuz^{16,31}, Eylem Toğluk-Yığıtoğlu^{19,32}, Necip Selçuk Yontar^{30,28}

Etkenler

Akut

- Monomikrobiyal
- *S.aureus*
- *S.pyogenes*

Yüzeysel DAE
Antibiyotik kullanımı yok

Kronik

- Polimikrobiyal
- Enterokok
- Enterobacterales
- *P.aeruginosa*

Derin yerleşimli DAE
Antibiyotik kullanımı var

Şiddetli

- Anaerop streptokoklar
- *Clostridium spp*
- *Bacteroides*

Şiddetli lokal enfeksiyon
Nekroz
Gangren
Sistemik toksisite

Unutma!!

Mikobakteriler (*Mycobacterium tuberculosis* kompleks dışındaki)

Mantarlar (*Candida spp*, *Aspergillus spp*, *Fusarium spp*, *Alternaria spp*, *Zygomycetes*, vb.)

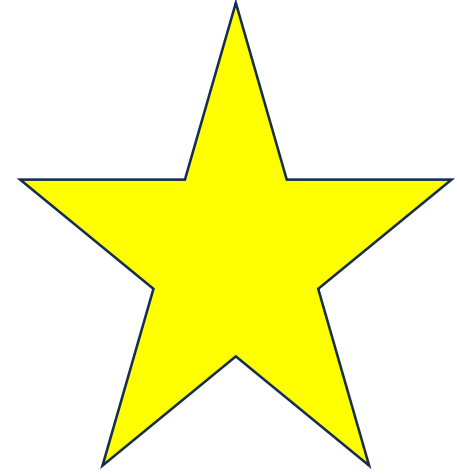
Virüsler (Herpes simpleks virüs, sitomegalovirüs, Varisella-zoster virüs, vb.)

Türkiye’de çeşitli çalışmalarda belirlenen DAİ etkenleri

Çalışmalar	İzolat sayısı	Gram pozitif bakteri n(%)	Gram negatif bakteri n(%)	Etken dağılımı (%)
Saltoğlu ve ark,2018 DOI: 10.1016/j.ijid.2018.02.013	536	235 (43,9)	301 (56,1)	S.aureus (20,5) P.aeruginosa (18,4) E.coli (12,3) Enterokok (11,9) KNS (8) Diğer (26,3)
Vatan ve ark,2018 https://doi.org/10.1111/ijcp.13060	339	110 (32,5)	229 (67,5)	P.aeruginosa (23) KNS (10,3) Enterokok (9,7) S.aureus (9,1) Proteus spp. (8) Diğer (33,4)
Saltoğlu ve ark,2021 DOI: 10.1177/15347346211004141	247	134 (54,2)	106 (42,9)	S.aureus (14,6) E.coli (13) Streptokok (11,3) Enterokok (11,3) KNS (9,3) Diğer (40,3)

KSBUEvliya elebi EAH

Mikrobiyoloji Laboratuvarı-OCAK 2025



Örnek türü (n)	Etken dağılımı
Yara yeri sürüntü (57)	11 Ø (m.o görülmedi), 9 CFK, 5 (4 ve üzeri m.o- lökosit görülmedi), <i>Enterobacterales</i> (12) <i>S.aureus</i> (2) <i>A.baumannii</i> (2) <i>P.aeruginosa</i> (5) <i>A.faecalis</i> (2) <i>C.albicans</i> , <i>S.anginosus</i> <i>K.pneumoniae</i> + <i>Proteus spp.</i> <i>E.coli</i> + <i>Proteus spp.</i> <i>K.pneumoniae</i> + <i>Enterococcus spp.</i> <i>P.aeruginosa</i> + <i>A.baumannii</i> <i>E.coli</i> + <i>A.baumannii</i> <i>P.aeruginosa</i> + <i>Proteus spp.</i> <i>K.pneumoniae</i> + <i>E.coli</i>
Apse (4)	<i>S.aureus</i> , <i>E.coli</i> , CFK, Ø
Derin doku (3)	<i>S.aureus</i> , <i>C.freundii</i> , <i>S.pettenkoferi</i>

Diyabetik Ayak Uluslararası Çalışma Grubu (IWGDF) ve Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği'nin (IDSA) ortak çalışmaları sonucunda klinik kriterler getirilerek Diyabetik Ayak Ülserleri sınıflandırılmıştır

[Deri, Deri Ekleri, Yumuşak Doku ve Göz Örneklerinin Laboratuvar İncelemesi Rehberi \(Ver2-2024\)](#)

Evre / Şiddet	Klinik kriterler
Evre 1 / Enfeksiyon yok	Sistemik veya lokal semptom veya enfeksiyon belirtisi yok.
Evre 2 / Hafif	Yalnızca deri yüzeyinde beliren bir lezyon beraberinde aşağıdakilerden en az ikisi var: <ul style="list-style-type: none">• Lokal artmış sıcaklık• Ülser çevresinde 0,5-2 cm genişliğinde eritem• Lokal hassasiyet veya ağrı• Lokal şişlik veya sertlik• Pürülan akıntı Ve derideki inflamatuvar yanıtın başka bir nedeninin olmaması (örn., travma, gut, akut charcot nöroartropatisi, kırık, tromboz veya venöz staz vb.)
Evre 3 / Orta	Sistemik belirtilerin olmadığı ve şunları içeren enfeksiyon: <ul style="list-style-type: none">• Yara kenarından (herhangi bir yöne) 2 cm.den fazla genişlemiş eritem ve/veya• Deri ve deri altı dokulardan daha derindeki dokulara (örn., tendon, kas, eklem, kemik) ilerlemiş enfeksiyon (derin apse, lenfanjit, septik artrit, fasit, osteomyelit* vb.) * Osteomyelit varsa evre adlandırmasına "O" eklenir: Evre 3(O)
Evre 4 / Ağır	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">• Vücut sıcaklığı: >38°C veya <36°C• Nabız sayısı >90/dakika• Solunum hızı >20/dakika veya PaCO₂ <4,3 kPa (32 mmHg)• Lökosit sayısı >12.000/mm³ veya <4.000 mm³ veya >%10 olgunlaşmamış nötrofil varlığı * Osteomyelit varsa evre adlandırmasına "O" eklenir: Evre 4(O)

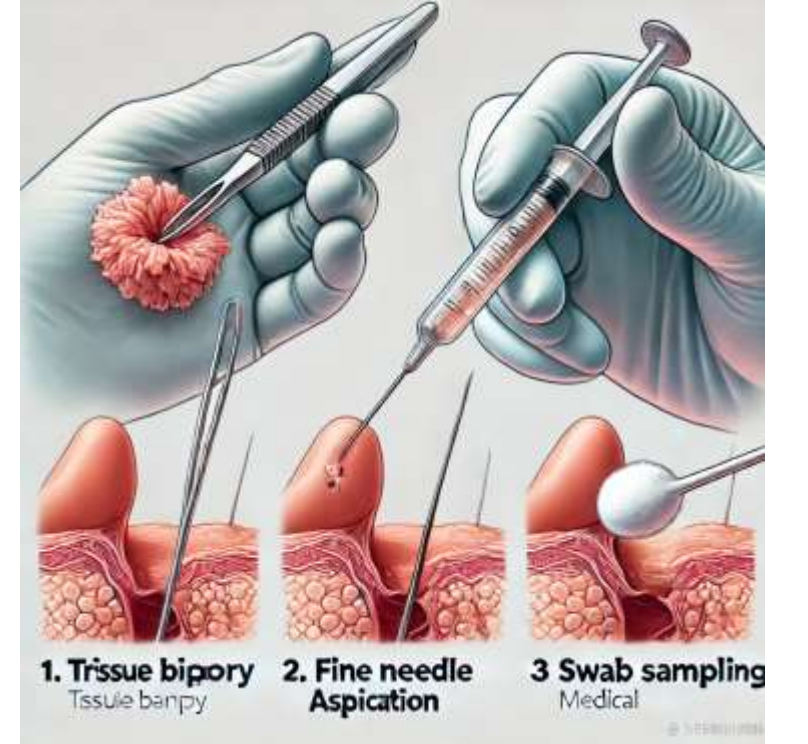
Kısaltmalar – IWGDF, International Working Group on the Diabetic Foot; IDSA, Infectious Disease Society of America

Bu kriterlere göre enfeksiyondan şüphe duyulan (Evre 2'den itibaren), inflamasyon bulguları veren pürülan lezyonlardan mikrobiyolojik inceleme yapılmalıdır.

ÖRNEK ALIMI VE TAŞINMASI: NE ZAMAN? NASIL?

Enfeksiyon düşünülmeyen yaradan kültür alınmamalı!

Yarada enfeksiyon şüphesi varlığında Kültür için sıklıkla alınan üç örnek türü; doku biyopsi örnekleri, iğne aspirasyon örnekleri ve sürüntü örnekleridir



Dikkat!!

Sistemik enfeksiyon bulguları da var ise eş zamanlı kan kültürü alınması da önerilmektedir.

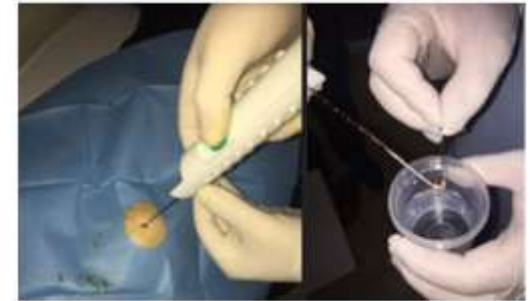
Antibiyotik tedavisi altında alınan örneklerde kültürde üreme olmayabilir.

Anaerobik mikroorganizmaların etken olabileceği kronik yaralarda, örneğin oksijenle temasının önlenmeli, anaerobik taşıma ortamına aktarıldığı takdirde oda sıcaklığında en fazla iki saat içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır.

Örnekler sızıntı yapmayan, steril kaplarda veya uygun taşıma vasatları içinde laboratuvara gönderilmelidir.

Formol/formalin içerisinde gönderilen örnekler, formolün mikroorganizmaları öldürücü etkisi nedeniyle reddedilir.

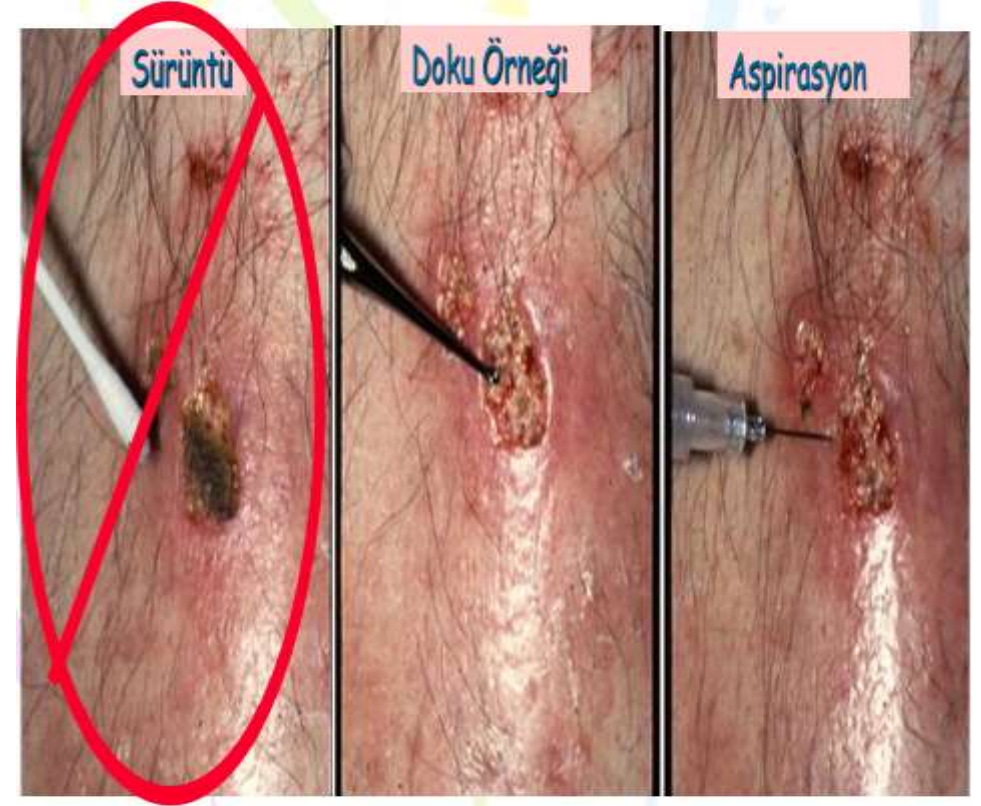
İğne aspirasyonu ile alınan örnekler, laboratuvar çalışanlarının güvenliği için, asla örneğin aspire edildiği enjektör ile gönderilmemeli, steril bir örnek taşıma kabına (örneğin steril idrar kabı) aktarılmalıdır.



Yara yüzeyinden eküvyonla alınmış sürüntüler diyabetik ayak ve dekübitüs yaralarının kültürü için uygun değildir!

Anaerobik kültür için uygun örnekler, iğne aspirasyon ve doku biyopsi örnekleridir. (Sürüntü örnekleri uygun değil)

Viral etkenler için bakteriyolojik kültür yapılamayacağı unutulmamalı, mantar ve mikobakteri şüphesinde de mutlaka laboratuvar ile iletişim kurulmalıdır.



CİLT TEMİZLİĞİ/ANTİSEPSİSİ

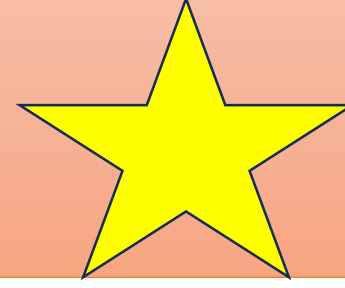
Yara örnekleri cilt florası ve çevresel mikroorganizmalar tarafından kolonize olabileceği için örnek almadan önce uygun cilt temizliği/antisepsisi sağlanmalıdır.

Örnek almadan önce yara yüzeyi steril serum fizyolojikle (60-120 ml) bir enjektör yardımıyla iyice temizlenmeli

Steril gazlı bez yardımıyla nazikçe yara üzerindeki yüzeysel eksüda, topikal yara bakım ürünleri, topikal antimikrobiyaller uzaklaştırılmalı

Nekrotik dokular uygun teknikle debride edilerek uzaklaştırılmalı

Doku biyopsi örnekleri



Hangi örneğin kültür açısından daha uygun olacağı tartışılrsa da altın standart yöntemin doku biyopsi kültürü olduğu bildirilmektedir.

Dokunun hem aerobik hem de anaerobik kültürünün yapılması, kronik yara enfeksiyonunda anaerobik etkenin belirlenmesi açısından önemlidir. Bu nedenle, doku biyopsi örnekleri kültür için laboratuvara gönderilirken mutlaka anaerobik kültür istemi de yapılmalıdır.

Örnek alınmadan önce doğru cilt temizliği ve ölü dokuların debridmanı yapılmadığı takdirde flora bakterileri/kolonizan bakteriler de örneğe karışarak doğru yorum yapılmasını engelleyecektir.

Bu yöntem altın standart olmasına rağmen, invaziv ve ağrılı bir yöntem olması, diğer yöntemlere göre daha pahalı olması gibi dezavantajları bulunmakta

İğne Aspirasyon Örnekleri



Özellikle deri kaybının az olduğu durumlarda veya cerrahi sonrası gelişen apselerde en avantajlı yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Doku biyopsi yöntemine göre daha az invaziv olması ve doku biyopsi kültüründe olduğu gibi anaerobik kültürün de yapılabilmesi bu yöntemin avantajları iken, ağırlı bir yöntem olması en önemli dezavantajıdır.

İğne aspirasyonu ile kapalı yaradan örnek alınacaksa önce aseptik teknikle cilt antiseptisi sağlanmalıdır. Bunun için %2 klorheksidin veya %10 povidon iyot ile muameleyi takiben %70 alkol ile silinerek aspire edilecek alanın üzeri temizlenebilir.

Sürüntü Örnekleri



Klinikte en sık kullanılan,

Sıklıkla yüzeyde bulunan mikroorganizmalar tespit edilebilir, derin dokuya yerleşmiş olan mikroorganizmanın tespit edilme ihtimali düşüktür.

Örnek alınırken steril serum fizyolojik ile nemlendirilmiş eküvyon çubuğu ile mümkünse iki eküvyon ile örnek alınmalıdır.

Pratik, non-invaziv ve diğer yöntemlere göre daha ucuz bir yöntemdir.

Yapılan çalışmalarda örnek alma basamakları doğru uygulandığı takdirde sürüntü örneklerinin etkeni belirlemede biyopsi örnekleri kadar etkin olduğu bildirilmektedir.

Sürüntü örnek alma teknikleri

A. Levine Tekniği: Steril, pamuk/alginat uçlu eküvyon ile 1 cm²'lik yara yatağına 5 saniye boyunca minimal kanamaya sebep olacak şekilde basınç uygulanarak, eküvyon aynı nokta üzerinde döndürülerek örnek alınır.

Mikrobiyolojik kültür alımı için sürüntü şeklinde örnek alımında en doğru teknik olarak bildirilmektedir.

B. Z-tekniki: 10 nokta zigzag yöntemi olarak da adlandırılmaktadır. Steril pamuk/alginat uçlu eküvyon yara kenarlarında 10 noktayı birleştirecek şekilde yara yatağı zeminine tüm yara yatağına zigzaglar çizilerek örnek alınır. Levine tekniğinden sonra sıklıkla kullanılan örnek alma yöntemidir.



Örneklerin işlenmesi ve iş akışı

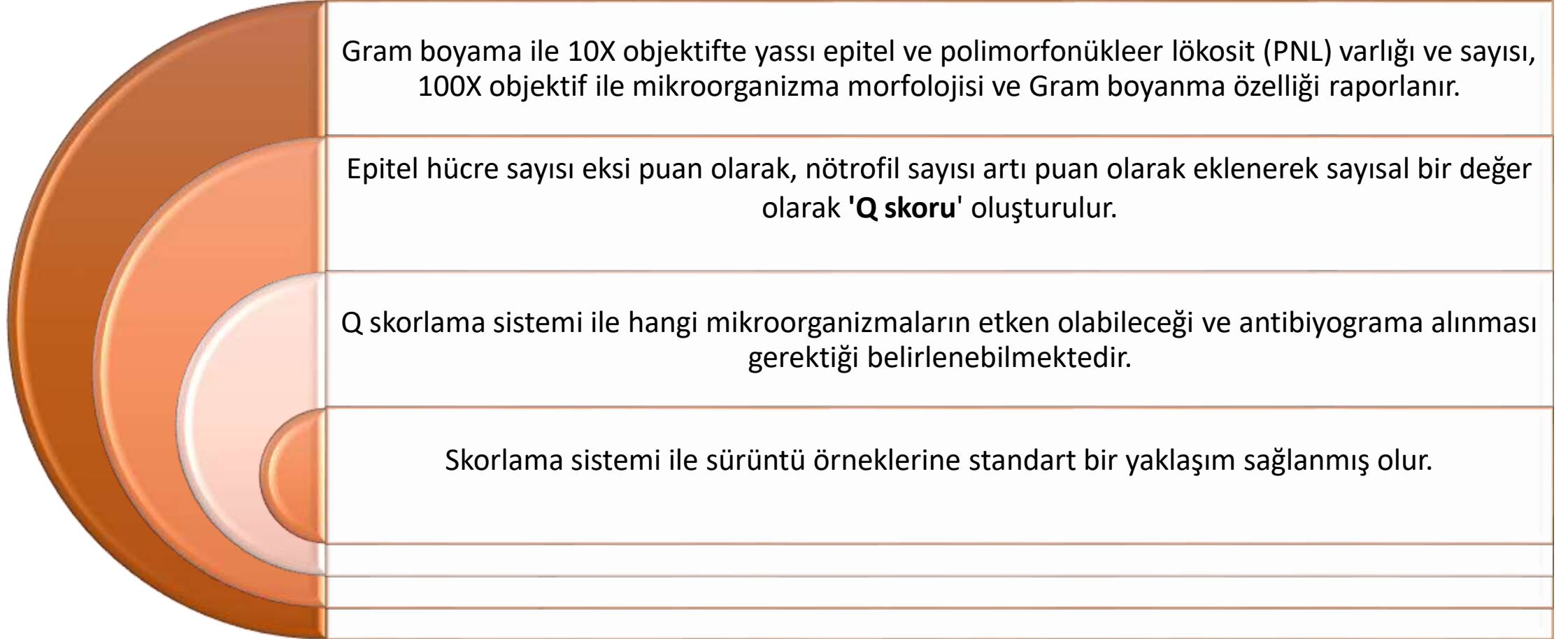


Ülserlerde bulunan bakteri sayısının, enfeksiyonun şiddeti, seyri ile ilgili olduğu kabul ediliyor ve örnekler sayım tekniğiyle ekilip (kantitatif kültür) sonuçlar 1 gram dokuda mikroorganizma cinsinden ifade ediliyordu.

Ancak, enfeksiyonun seyrinde, dokuda bulunan bakteri sayısından ziyade **spesifik patojenlerin ve virülans faktörlerinin** daha önemli olduğu gösterilmiş, **kantitasyon yöntemi uygulamadan kaldırılmıştır!**

Uygun teknikle alınan iğne aspirasyon ve doku biyopsi örneklerinde üreyen tüm etkenler patojen olarak değerlendirilerek tür düzeyinde tanımlama ve antibiyogram işlemleri yapılır.

Sürüntü örneklerinde Q skorlama sistemi



		Skvamöz epitel hücre				Q skoru
		0	-1	-2	-3	
PMN	0	3	0	0	0	
	1	3	0	0	0	
	2	3	1	0	0	
	3	3	2	1	0	

0: Hücre yok
1: 1-9 hücre/dba
2: 10-24 hücre/dba
3: >24 hücre/dba
dba: Düşük (10x) büyütme alanı
PMN: Polimorf nüveli lökosit

Q skoru 0 olan örneklerin kültürünün çalışılmasına gerek yoktur.

Q3 skoruna sahip örnekler en kaliteli örneklerdir.

Tanımlanacak ve rapor edilecek potansiyel patojen sayısı Q1 için 1, Q2 için 2, Q3 için 3 olarak önerilmektedir

Kültürde dört veya daha fazla bakteri türü üremesi durumunda üreyen bakterilerin kontaminant olma olasılığı arttığından uygun yara temizliğini takiben yeni örnek gönderilmesi gereklidir.

Tablo 1: Üreme sonuçlarının Q skorlarına göre dağılımı [n(%)].

Kültür sonucu	Q0	Q1	≥Q2	≥Q1
Üreme yok (n=96)	42	22	32	
Üreme var (n=215)	43	44	128	
Cilt florası bakterileri (n=73)	21 (28.8)	16 (21.9)	36 (49.3)	52 (71.2)
≥1 Patojen etken (n=142)	22 (15.5)	28 (19.9)	92 (65.3)	120 (85.2)
p*	0.043		0.0324**	0.0154***
Toplam	85	66	160	

Üreme görülen kültürlerden, cilt florası üreyenlerde, skoru Q0 olanların oranı (%28.8) 1 veya daha fazla patojen üreyenlerdeki Q0 skoru olanların oranına (%15.5) göre anlamlı yüksek (p=0.043).

Klinik tablo / Örnekler	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı	Olası etkenler
		Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre		
Diyabetik ayak, dekübitüs ülserleri / Biyopsi dokusu, aspirat	Çikolata agar	35-37	%5 CO ₂	48 sa	Günlük	Aerop bakteriler Stafilokoklar, Streptokoklar, Enterokoklar, Enterobacterales üyeleri, Pseudomonas, HACEK grubu, Nocardia spp
	Kanlı agar	35-37	%5 CO ₂	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 <i>Bacteroides</i> safralı eskülinli agar besiyerlerine pasaj yapılır)					
Osteomyelit/ Kemik biyopsi örneği	THIO	35-37	Aerobik	16-24 sa	>40 sa	Anaerop bakteriler <i>Bacteroides</i> spp, <i>Prevotella</i> spp, <i>Porphyromonas</i> spp, <i>Clostridium</i> spp, <i>Gram-pozitif anaerop koklar</i>
	Çikolata agar	35-37	%5 CO ₂	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		

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



Moleküler
yöntemler??



Rapid microbiological diagnosis based on 16S rRNA gene sequencing: A comparison of bacterial composition in diabetic foot infections and contralateral intact skin

Ying Huang^{1†}, Zhizhou Xiao^{2†}, Ying Cao^{3†}, Fang Gao^{3*},
Yingyu Fu^{3*}, Mengchen Zou³, Xiangrong Luo³, Ya Jiang³ and
Yaoming Xue³

OPEN ACCESS

EDITED BY
Barkat A. Khan,
Gomal University,
Pakistan

REVIEWED BY
Nayab Batool,
University of Agriculture,
Faisalabad, Pakistan
Kaijian Hou,
Shantou University,
China

*CORRESPONDENCE
Fang Gao
gaof1212@163.com
Yingyu Fu
yingyufu@gzhmu.edu.cn

- DAI'lerin hızlı mikrobiyolojik tanısı için, kronik diyabetik ayak ülserlerinin (DAU) ve sağlam derinin mikrobiyomu karşılaştırılması
- Ülser sürüntüsü ve doku biyopsisi ve DAI'li 10 hastadan sağlam derinin eşleştirilmiş sürüntüleri
- Geleneksel kültür ve Kişisel Genom Makinesi (PGM) 16S rRNA dizilim teknolojisi

- ✓ PGM ile önemli ölçüde daha fazla bakteri cinsi tespiti
- ✓ Geleneksel kültürlerle kıyasla daha fazla zorunlu anaerob ve daha fazla polimikrobiyal enfeksiyon
- ✓ Yara **sürüntüleri ve dokular arasında** bakteri zenginliği, çeşitliliği veya kompozisyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı **fark yok**
- ✓ Sağlam derideki bakteri topluluğu, DAU'lardakinden önemli ölçüde daha çeşitli
- ✓ Karşı taraf sağlam deride gram pozitif bakteriler (%67,6) ve aeroblar (%59,2) baskın, DAU'larda en yaygın olanlar Gram negatif bakteriler (%63,3) ve zorunlu anaeroblar (%50,6)
- ✓ İnvaziv bir teknik olan biyopsi ile karşılaştırıldığında, yara sürüntüsü DAI'lardaki bakteriyel patojenleri örneklemek için yeterli olabilir.

Sonuç olarak...

*Kronik yara enfeksiyonu
gibi yönetimi ve tedavisi
zor durumlarda,*

- Örnek alma ve laboratuvara transferi konusunda mikrobiyoloji laboratuvarı ile iletişim ve işbirliğinden çekinilmemelidir....



A
i
Z
O
N
A
i
A
N
T
i
K
K
E
N
T
i

Teşekkürler....