ANKEM Derg 15 (No. 3): 358-362 (2001)

YANIK İNFEKSİYONLARINA MİKROBİYOLOJİK YAKLAŞIM

Ahmet BAŞUSTAOĞLU

Yanıklarda mortalitenin artmasına yol açan en önemli faktör infeksiyonlardır. Yanıklı hasta anatomik ve fizyopatolojik olarak infeksiyonlara son derece duyarlı hale gelmiştir. Öncelikle primer doğal direnç mekanizmalarından olan derinin bütünlüğü kaybolmuş, ayrıca canlılığını kaybetmiş olan deri katmanları, mikroorganizmalar için iyi bir üreme ortamı meydana getirir, plazma ve diğer kan elemanlarının kaybı ile de vücudun immün savunma mekanizmalarında zayıflama meydana gelir. Yanık hastası açıkça immünosupressif bir konakçıdır. Yanığın total büyüklüğüyle direkt orantılı olarak granülositlerin kemotaksis, fagositoz ve bakteri öldürme gibi primer fonksiyonlarının hepsi bir dereceye kadar baskılanmıştır. Bir diğer yönden immünomodülatuar moleküllerin (TNFa ve diğer sitokinler gibi) düzensiz salınımları bu zayıflamayı daha da artırabilmektedir. Nonspesifik, humoral ve hücresel immün fonksiyonlar yanık olayının başlamasından hemen sonra ve giderek artan bir şekilde deprese olur. Dolanımdaki immün globulin düzeyleri yanık oranına ve plazma kayıplarına bağlı olarak azalır (2). IgG'deki azalma oranına bağlı olarak mortalite oranları da artar. Hücresel immün sistemin temel elemanı olan supressör T-hücrelerinde de sayı ve fonksiyon azalması olur. Ayrıca monositlerde de aktivite azalması saptanır (1,4). Bütün bu immünolojik değişikliklerin yanında, yanıklı hastaları infeksiyonlara yatkın hale getiren en önemli faktör nötrofil sayı ve fonksiyonlarında gözlenen azalmadır. Belli açılardan, yanıklı hastaların nötropenik hastalarla infeksiyonlar açısından çok büyük benzerlikleri bulunmaktadır. Bu tip hastalarda sepsis gelişimine ve mortaliteye yol açan en önemli faktör nötrofil fonksiyonlarındaki azalmadır. Plazma kayıpları ile meydana gelen şok sonucunda birçok organda infeksiyonlarla mücadele için kullanılabilecek yedek rezervlerin tüketildiği görülmektedir. Bu kayıpların yerine konması için ve genel olarak yanık hastalarının birçok tıbbi-cerrahi girişime mutlak gerek duymaları, bu girişimlerin ortaya çıkartabileceği nosokomiyal infeksiyonlar açısından da mortalitenin yükselmesine neden olacaklardır.

Yanık dokusu ya da eskar cansızdır ve mükemmel bir kültür ortamıdır. Yanık yarası yüzeyinde bakterilerin supraeskar kolonizasyonunun ya da çoğalmasının büyük bir önemi yoktur. Bununla birlikte bakteriler intraeskar bir kolonizasyon oluşturmak için ısıyla denatüre olmuş kollajenden kolayca penetre olurlar. Sadece bakteriler yanık eskarının altındaki canlı dokuyu işgal etmeye başladıkları zaman "yanık yarası infeksiyonu" terimi kullanılır. Bu invazyon olayı eskardaki bakteri miktarı ile çok iyi bir korelasyon gösterir. İnvazyon genelikle bakteri sayısı tam kalınlıktaki bir eskarda gram başına 10^5'i aştığı zaman başlar. Bu sayı alttaki canlı dokunun savunma mekanizmalarını baskılayacak gibidir. Bakteriyel konsantrasyon eskarın gram başına 10^9'a yaklaştığı zaman kan damarı invazyonu ortaya çıkar ve bakteriyemi ile sonuçlanır.

Yara yüzeyindeki bakteri varlığının ortaya konması yanık yarası infeksiyonu için diyagnostik değildir, çünkü bütün yanıkların yüzeyinde kolonizasyon oluşur. İnfeksiyon bulunduğu vakit bile standart klinik parametreler güven verici değildir. Fulminant yanık sepsisinden ölen hastaların sadece % 50'sinde kan kültürü pozitif bulunmuştur. Yani, primer infeksiyon bölgesinden endotoksin gibi toksik bakteriyel ürünlerin salıverilmesiyle ölüm oluşabilir. Yanık dokusunda bakteri sayısının belirli bir değere ulaşmasına kadar infeksiyonun tanısı büyük bir sorundur.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Etlik, Ankara.

ETİYOLOJİ

Yanık sonrası kısa bir süre için yanık yarasının yüzeyi, başlangıçta çok büyük bir kontaminasyon olmadıkça sterildir. Genellikle ikinci günden sonra yaranın bakteriyel kolonizasyonu başlar. Başlangıçta, bakteriler hastanın kendi endojen florasından veya çevreden gelir: *S.epidermidis*, *S.aureus* ve diğer Gram pozitif bakteriler ve fekal floradan enterik çomaklar gibi. Bir kaç hafta sonra ya da yanık yarasının büyüklüğüne bağlı olarak daha da erkenden Gram negatif çomaklar hakim olmaya başlarlar. Bunların en önemlisi *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp.'dır. Bununla birlikte son zamanlarda *Providencia* spp. ve *Serratia marcescens* artan bir sıklıkla sahneye çıkmışlardır. Bu üç tür Gram negatif çomak sıklıkla bir çok konvansiyonel antibiyotiğe dirençlidirler.

Mayalar ve filamentöz mantarlar da yanık yaralarında kolonize olabilirler ve nadiren sepsise yol açarlar. *Candida* spp.'ları çok yaygındır, *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. ve *Zygomycetes*'ler daha az sıklıkla görülürler.

Yanıklı hastalarda gözlenen yanık eskar dokusu infeksiyonları diğer sistemik ve jeneralize infeksiyonlara kaynak oluşturmaktadır. Eskar dokusundaki infeksiyonlar merkezden merkeze, ülkeden ülkeye ve yanık zamanına bağlı olarak etiyolojik farklılıklar gösterebilmektedir. Örneğin ABD'de bulunan "Cornell University, Trauma-Burn" merkezinde yanık dokusu biyopsilerinden alınan kültürlerde en sık üreyen bakteriler *Enterobacter cloacae* ve MRSA iken, ülkemizdeki en eski yanık merkezi olan GATA Yanık Merkezinde ilk iki sırayı *Pseudomonas aeruginosa* (% 42) ve *Staphylococcus aureus* (% 26) almaktadır (5) .

Mikrobiyolojik etkenler açısından her yanık merkezinin kendi flora araştırmalarını yapmaları ve bunu düzenli periyodlarla (aylık periyodlar) izlemeleri ve gerektiği zaman bu sonuçlara göre ampirik-sistemik tedavilerin başlanması birçok merkez tarafından kabul görmektedir. Yanık eskarını infekte eden en sık rastlanan etkenler tabloda sunulmuştur.

Tablo. Yanık eskarını infekte eden mikroorganizmalar.

Bakteriler
– Gram pozitif koklar: S.aureus, S.epidermidis, Streptococcus spp.
– Gram negatif çomaklar: Enterobacteriaceae spp., Pseudomonas spp., Acinetobacter spp. ve diğer aerop Gram negatif bakteriler, Bacteroides spp.,
Funguslar: Candida spp., Aspergillus spp.
Virüsler: Human herpes virus I ve II

Yanıklı hastalarda hayatı tehdit eden birçok infeksiyonun orijini daha çok, hastanın kendi florası veya çevre kontaminasyonu (Cross-contamination) bakterilerdir. Çapraz kontaminasyonun (Cross-contamination) önlenmesi açısından disposibl olmayan tüm materyalin dezenfeksiyon ve sterilizasyondan sonra mikrobiyolojik kontrollerinin yapılmasında da büyük yarar bulunmaktadır. Birçok beklenmeyen ortam, hayatı tehdit eden ciddi infeksiyonlar için kaynak olabilmektedir. Bu açıdan sepsis gibi yaşamı tehdit edebilecek infeksiyöz patolojiler ortaya çıkmadan hastanın mikrobiyolojik profilinin çıkartılmasında yarar bulunmaktadır. Yanıklı hastaların yanık eskarı, burun, boğaz, balgam, idrar kültürleri ve sepsis bulgusu varsa kan kültürleri rutin olarak yapılmalıdır.

Solunum sisteminin bakteriyel infeksiyonları yanıklı hastalarda gözlenen diğer sık infeksiyonlardandır. Genellikle yanık pnömonisinin temelinde duman ve alev inhalasyonu, travma sonrası hiperventilasyon ve şuur kaybı ile yanığa bağlı olarak gelişen tidal volum azalması sonunda meydana çıkan atelektaziler bulunmaktadır. Geç dönemlerde nasogastrik tüp beslenmesine bağlı olarak aspirasyon pnömonisi açısından da dikkatli olmak gerekmektedir. Solunum sisteminde mukosilier aktivitenin de tahrip olması pulmoner infeksiyonlara yatkınlığı arttırmaktadır.

İnfekte süpüratif tromboflebit de yanıklı hastalarda yaşamı tehdit eden bir infeksiyondur. Tanısı, infekte venin yanık eskarı altında kalabilmesi nedeniyle zaman zaman güçlükler göstermektedir. Tedavi başlanan tromboflebitlerde bile mortalitenin %50-60 olduğu unutulmamalıdır. Alev ve sıcaklığın direk etkisi ile derin kas dokularında da nekroz ve infektif odaklar meydana gelebilmektedir.

Ayrıca hastanede kalış süresi içerisinde üriner sistem infeksiyonları gelişme olasılığı göz ardı edilmemelidir. Bu nedenle sıklıkla kontrol edilmesinde yarar vardır.

Sonuç olarak, yanıklı hastalarda öncelikle kontaminasyon ve çapraz kontaminasyon önlenmelidir; tam izolasyon sağlanmalı, hastanın hemen hemen tüm tıbbi-cerrahi alet ve sarf malzemeleri kendine ait olmalıdır. Erken dönemlerde mikrobiyolojik profil ve her yanık merkezinin kendine ait nosokomiyal mikrobiyolojik profilleri oluşturulmalı, gerektiğinde antibiyotik seçimleri bu profile göre yapılmalıdır.

MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI VE YANIK

Yanık eskarı mikropların üremesi için çok elverişli cansız, damarsız bir yapıdır. Yanığın siyah, dejenere ya da sağlıksız bölgelerinden alınan biyopsi örneklerinden ya da yanık yaralarından drene olan sıvılardan yapılan kalitatif veya kantitatif kültürler yerel ya da invaziv infeksiyonların etyolojisinin belirlenmesinde yararlı olabilir. Diğer doku tipleri de bu yöntem kullanılarak işleme tabi tutulabilir. Yaralar etraflarındaki deri ya da mukozaların normal florasıyla kontamine ya da infekte olabilir. Bu nedenle, kültürlerde vücut bölgesine göre potansiyel patojenlerin izole edilmesini sağlayacak besiyerleri kullanılmalıdır. Yaralar çok çeşitli organizmalarla hızla kolonize olur; bu da, karışık kültürlerin yorumunu güçleştirir.

Yanık eskarının biyopsi kültürünün günümüzde güvenilir bir diyagnostik metot olduğu gösterilmiştir. Kısaca, yıkanmış yanık yarasının tam kalınlıktaki bir biyopsisi bir skalpel (ufak ve düz bıçak) ya da punch (zımba) biyopsi cihazı kullanılarak elde edilir. Materyal ya subeskar bakteriyel invazyonun oluşup oluşmadığını saptamak için mikroskobik olarak incelenir ya da materyalin gram başına düşen bakteri sayısını saptamak için sayısal bakteriyolojik analizi yapılır.

Orijinal örnekteki organizmaların rölatif sayısı, orijinal inokülasyon alanından başlayarak üreyen koloniler esas alınarak tahmin edilebilir.

Dört kadrana ekim yapılan tüm plaklarda organizma sayısını aşağıdaki şekilde belirlenebilir:

Derece		Ekim bölgesindeki koloni sayısı
Nadir	=	1. kadranda 1-9 koloni
1+	=	1. kadranda ≥10 koloni fakat 2. kadranda <10 koloni
2+	=	2. kadranda ≥10 koloni fakat 3. kadranda <10 koloni
3+	=	3. kadranda ≥10 koloni fakat 4. kadranda <10 koloni
4+	=	4. kadranda ≥10 koloni.

Örneklerde bulunan bakteri miktarı, her vücut bölgesi için rapor etme kriterlerine uygun olarak tek tek ya da grup halinde (örneğin 2+ *S.aureus* ya da 2+ mikst Gram pozitif organizmalar) şeklinde rapor edilir.

Ancak aşağıdaki yöntemde belirtilen kriterler bu işlemin standardizasyonunu sağlar. Bazı vücut bölgelerinde bulunan bakterilerin rölatif sayısı, izole edilen bakterinin önemini belirlemede yardımcı olur ve suş üstünde laboratuvarın yapacağı işlemlerin boyutunu belirler.

Kantitatif kültür yöntemi

Değerler yanık dokunun gramı başına bakteri sayısı olarak ifade edilir. Bütün bu işlemler yaklaşık 24 saat gerektirir. Dokunun gramı başına 10^5 bakteri sayısı bulgusu yanık yarası infeksiyonu için tanısal değer taşır (3).

Yöntem:

1. Yanık birimi alınan doku örneğini tanımlayın.
2. Örneği aşağıdaki şekilde tartın:
   a. Steril bir petri plağının kapağını otomatik dara terazisine yerleştirin ve teraziyi yeniden sıfırlayın.
   b. Dokunun ağırlığını saptamak için, petri plağı hala terazideyken doku örneğini petriye yerleştirin ve tartın.
3. Dokuyu 2 ml beyin-kalp infüzyon buyyonuyla bir doku öğütücüsünde ezin.
4. Kalibre edilmiş özeleri kullanarak süspansiyondan 0.001 ml ve 0.01 ml miktarlarda 2 adet %5 koyun kanlı agar ve MacConkey agar ikili plağına ekim yapın.
5. Plakları CO_2'li ortamda, 35°C'de 18-24 saat inkübe edin.
6. Plakları 18-24 saat ve 48 saat inkübasyondan sonra inceleyin ve üreme olursa koloni sayısını saptayın.
7. Aşağıdaki formülü kullanarak her bir koloni tipi için ayrı ayrı kantitatif tayin yapın:

$$\frac{N \times D \times 2}{W(g)}$$

N = Sayılan koloni sayısı
D = Plaktaki nihai dilüsyon (örneğin 1,000)
W = Biyopsi örneğinin gram cinsinden ağırlığı
2 = 2 ml beyin-kalp infüzyon buyyonunda hazırlanan örnek için kullanılan sabit

Örnek: 25 mg'lık bir örnekte 1:1,000 dilüsyonda 50 koloni ürerse :

$$\frac{50 \times 1{,}000 \times 2}{0.025} = 4 \times 1{,}000{,}000\ (4 \times 10^6)\ \text{organizma/g}$$

8. Koloni sayısını dokunun gramı başına olacak şekilde rapor edin "(sayı) koloni/gram (organizmanın adı)" ve identifikasyon ve antimikrobiyal duyarlılık testi yapın.
9. Eğer plakta üreme yoksa <100 ya da <1000 CFU/g olarak rapor edin.

Aynı hastadan farklı günlerde alınan birden fazla örnek için 7 gün süreyle önceki kültürlerin identifikasyon ve duyarlılık sonuçları kullanılabilir. Stafilokoklar, *Serratia, Enterobacter* ve *Citrobacter*'in tekrar izole edilen suşları için çoğu antimikrobiyalin duyarlılık sonucu 7 güne kadar değişmez. Ancak *P. aeruginosa*'nın tekrar izole edilen suşları için 3 gün öncesine kadar kültürlerin sonuçları kullanılabilir, 4. günden sonra izole edilen suşlar yeniden işleme alınır. Gerektiğinde koloni morfolojisi, Gram boyama ve biyoşimik reaksiyonları karşılaştırılır.

KAYNAKLAR

1- Alexander JW, Ogle CK, Stinnett JD, et al: A squential prospective analysis of immunologic abnormalities and infection following severe thermal injury, *Ann Surgery 188:*809 (1978).

2- Artwson G, Hogman CF, Johanssan SGO, et al: Changes in immunoglobulin levels in severely burned patients, *Lancet 1:*546 (1969).

3- Loebl EC, Marvin JA, Heck EL, Curreri PW, Baxter CR: The method of quantitative burn-wound biopsy cultures and its routine use in the care of the burned patient, *Am J Clin Pathol 61:*20 (1974).

4- Shelbay J, Merrel SW: In-vivo monitoring of postburn immune response, *J Trauma 27:*213 (1987).

5- Şengezer M, Selmanpakoğlu N, Türegün M: Yanık yarasının mikrobiyolojik yönü, prospektif bir çalışma, *GATA Bült 35:*489 (1993).

6- Yurt RG: Burns, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases,* 5. baskı" kitabında s. 3198, Churchill Livingston, Philadelphia (2000).