

# ATIPIČNI UZROČNICI INFEKCIJE RANE I CILJANI UZORCI

NASTJA KUČIŠEC-TEPEŠ

Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, Zagreb, Hrvatska

Sve otvorene rane su primarno kontaminirane, zatim kolonizirane mikroorganizmima, dominantno bakterijama. Samo neke ~30% kroničnih rana je i inficirano. Čimbenici koji pogoduju razvoju infekcije su: velika količina bakterija, prisustvo čimbenika virulencije, te njihova količina i broj, sinergija djelovanja aerobnih i anaerobnih bakterija dominantno, stvaranje formacije biofilma. Uobičajeni uzročnici infekcije akutnih i kroničnih rana su: *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Streptococcus β-haemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides* spp, *Candida albicans*. Razlika između akutne i kronične rane je u dominaciji pojedinih uzročnika, s napomenom da *Staphylococcus aureus* u oba slučaja dominira. Atipični uzročnici infekcija kronične rane su rijetki, neuobičajeni, ne nalazimo ih na području na kojem živimo, ne dokazujemo ih klasičnim standardnim mikrobiološkim metodama, već su nužne molekularne metode. Dominantno su oportunisti, varijabilno iskazuju čimbenike virulencije, ili su izmijenili svoje fenotipske značajke i nisu uzročnici primarnih infekcija rana nego sekundarnih infekcija. Atipični uzročnici infekcija kroničnih rana su raznoliki; iz grupe anaeroba, *Peptoniphilus* spp, *Anaerococcus* spp, *Bacteroides ureolyticus*, *Fingoldia magma*, zatim grupa gram pozitivnih štapića roda *Corynebacterium*, grupa bakterija iz akvatične okoline *Mycobacterium fortuitum* kompleks, *Vibrio alginolyticus*. Ciljani uzorci obvezni su pri progresiji i raspadu ležišta rane, povećanju veličine, dubine rane, izolaciji višestruko otpornih mikroba, kada nema kliničkog odgovora na empirijsko antimikrobno liječenje.

Pri dijagnostici oportunističkih patogena ili atipičnih uzročnika infekcija kroničnih rana nužna je temeljitost, strpljenje, te revizija bolesnika, dijagnoza, liječenja i uzoraka. Ključno za otkrivanje uzročnika infekcija atipičnih rana je rasprava i dogovor s kliničkim mikrobiologom. Bitno za kvalitetnu dijagnostiku je dekontaminacija rane prije uzimanja ciljanih uzoraka. Ciljani uzorak je biopat – zlatni standard, rjeđe aspirat što ovisi o količini i sadržaju rane. Obrisek kao uzorak se ne preporuča. Ako nema drugog izbora, iznimno se mogu uzeti i površinski obrisci, ali samo uz sljedeće uvjete: dekontaminacija rane uz primjenu Lavinove ili Z-tehnike uzimanja obriska.

**KLJUČNE RIJEČI:** oportunisti, fiziološka flora, bakterije iz okoliša, biopat, aspirat

**ADRESA ZA DOPISIVANJE:** Dr. sc. Nastja Kučišec-Tepeš, prim., dr. med.  
Šulekova 30  
10000 Zagreb, Hrvatska  
E-pošta: davorin.tepes@gmail.com

## UVOD

Akutne rane su uobičajeno posljedica trauma različitih etiologija, kirurških postupaka ili najrazličitijih vrsta ugriza – insekata, ljudi, zmija. Cijeljenje takvih rana odigrava se kroz specifično definirane faze. Svaka faza cijeljenja akutne rane može biti onemogućena brojnim čimbenicima. Neki od njih su: tip rane, mjesto ili lokalizacija, područje, dubina, ponovljene traume, endogene bolesti (1).

Rana koja ne cijeli u očekivanom razdoblju, perzistira ± 6 tjedana, prelazi u kroničnu ranu. Čimbenici ključni za kronicitet su:

- populacija mikroba u rani; broj, patogenitet, virulencija, sinergija
- medijatori upale
- inaktivni stadij neutrofila
- bakterijski i humani toksini (endo- i egzotoksini)

- hipoksija tkiva
- metabolički poremećaji (povišeni nivoi glukoze u serumu)
- hemoragično, krhko granulacijsko tkivo
- redukcija broja fibroblasta i produkcije kolagena (2)

### MIKROBNI STATUS RANE

Sve otvorene rane su primarno kontaminirane, zatim kolonizirane mikroorganizmima, dominantno bakterijama. Samo neke ~30% kroničnih rana je i inficirano (1).

Čimbenici koji pogoduju razvoju infekcije su:

- velika količina bakterija, izražena kao CFU (engl. *Colony Forming Units*) u gramu (g) tkiva ili mililitru (mL) eksudata  $\geq 10^5$  -  $> 10^6$  CFU g/mL. To su prediktivne vrijednosti za razvijenu infekciju.
- Prisustvo čimbenika virulencije, te njihova količina i broj, ovise od vrsti bakterije. To su egzozoenzimi, egzotoksini, superantigeni, endotoksini, adhezini, kapsula i biofilm.
- Za patogeno djelovanje mikroba u rani bitna je sinergija djelovanja gram-pozitivnih, gram-negativnih aerobnih i anaerobnih bakterija dominantno, zatim gljiva i rijetko virusa.
- Stvaranje formacije biofilma u rani danas se smatra paradigmatom za kroničnu inficiranu ranu (1).

### UZROČNICI INFEKCIJE

Uobičajeni uzročnici infekcije akutnih i kroničnih rana su:

*Staphylococcus aureus*, MRSA, *Streptococcus  $\beta$ -haemolyticus* (serogrupe A, B), *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides* spp, *Candida albicans*. Razlika između akutne i kronične rane je u dominaciji pojedinih uzročnika, s napomenom da *Staphylococcus aureus* u oba slučaja dominira.

Atipični uzročnici infekcija kronične rane su rijetki, ne uobičajeni, ne nalazimo ih na području na kojem živimo, ne dokazujemo ih klasičnim standardnim mikrobiološkim metodama, već su nužne molekularne. Dominantno su oportunisti, varijabilno iskazuju čimbenike virulencije, ili su izmijenili svoje fenotipske značajke (3).

Izvor i rezervoar uzročnika je endogena mikroflora čovjeka i egzogena iz okoliša, dominantno vodenog. Atipični uzročnici nisu uzročnici primarnih infekcija rana. Oni su uzročnici sekundarnih infekcija. To se može obrazložiti na više načina. Perzistiraju u rani i nakon primijenjene antimikrobne terapije, jer su na nju

otporni ili je rana eksponirana vanjskim utjecajima - vodenom okolišu, pa novi mikrobi prodiru u nju, ili je zbog primjene antibiotika eliminirana fiziološka flora domaćina. U prirodi nema „praznih“ površina, pa mjesto eliminiranih mikroba isto koloniziraju, a zatim i inficiraju mikrobi drugih karakteristika i otpornosti ili pripadnici fiziološke flore domaćina, životinja, okoline (4).

Uzročnici atipičnih infekcija kroničnih rana su raznoliki, te razlikujemo:

- Skupinu anaeroba:
  - Peptoniphilus* spp
  - Anaerococcus* spp
  - Bacteroides ureolyticus*
  - Fingoldia magma* (5)
- Skupinu gram pozitivnih štapića roda *Corynebacterium* (6)
- Skupinu bakterija iz akvatične okoline
  - Mycobacterium fortuitum* kompleks
  - Vibrio alginolyticus* (7, 8,9)
- Skupinu iz okoline (prašina)
  - Danas dobro definirani patogen *Acinetobacter anitratus* – *calcoaceticus* (8,9)

### ZNAČENJE ANAEROBNIH BAKTERIJA

Važnost djelovanja anaerobnih bakterija, osobito gram pozitivnih anaerobnih koka upućuje na nespecifičan mehanizam djelovanja, značajan za održavanje infekcije i kronicitet rane. Sinergija djelovanja aeroba i anaeroba te obilje mikroorganizama u rani rezultira odgođenim cijeljenjem. Bowler i sur. prvi su upozorili na činjenicu da se premalo pozornosti obraća izolaciji anaerobne mikroflora iz rane (10). Isto su tako dokazali da se anaerobi nalaze u 80% inficiranih kroničnih rana. Značenje anaerobnih bakterija u rani koja ne cijeli je značajno, ali slabo detektirano. Česti anaerobi su *Bacteroides fragilis*, *Prevotella* spp i veliki heterogeni rod *Peptostreptococcus*. Dominantni uzročnici su gram pozitivni anaerobni koki – GPAC (engl. *Gram-Positive Anaerobic Cocci*). Danas je poznato da su uzročnici i manje poznati članovi te heterogene skupine:

- *Peptoniphilus asaccharolyticus*
- *Fingoldia magna*
- *Micromonas micros*

Uz njih uz rjeđe anaerobe nalazimo i gram-negativne štapiće kao što je vrsta *Bacteroides ureolyticus* (4). Za populaciju anaeroba značajno je da se razlikuju po učestalosti i vrstama, u ovisnosti o vrsti kronične rane.

Tako se u vrijeđu izoliraju u 1,5%, dijabetičkom stopalu u 65,0%, a u tlačnom vrijeđu i u 90,0% slučajeva. Anaerobi, pa i GPAC posjeduju brojne čimbenike virulencije, a neki od njih su kapsularni polisaharidi, fimbrije, hemaglutinini, egzoenzimi i toksini, inhibitori imunoglobulina (3).

S obzirom na činjenicu da su infekcije dominantno polimikrobne, a rjeđe isključivo anaerobno-monomikrobne, bitno je sinergističko djelovanje aeroba i anaeroba (2). Ta činjenica je ključna za ciljanu dijagnostiku – uzorak/bioptat, ali i za ciljano liječenje koje primarno mora razbiti sinergiju anaeroba i aeroba (5).

Patofiziološki procesi koje induciraju GPAC u rani su:

- učinci na imunosnu regulaciju
- izlučivanje izvanstaničnih produkata koji dovode do remodeliranja izvastaničnog matriksa
- stanična migracija i proliferacija
- sinergizam patogeniteta i rezistencije u biofilmu (11)

Rezultat je odgođeno cijeljenje i infekcija.

### ***Peptoniphilus* spp**

U *Peptoniphilus* spp ima nekoliko značajnih vrsta, koje se razlikuju temeljem genotipskih i fenotipskih osobitosti. To su: *Peptoniphilus asaccharolyticus*, *Peptoniphilus inodlicus*, *Peptoniphilus haeri* i *Peptoniphilus micros* (6,12).

Svi članovi roda pripadaju fiziološkoj endogenoj flori čovjeka s različitom zastupljenošću. S obzirom da su rijetki i kao članovi fiziološke flore, teško se dokazuju i identificiraju, a bez ciljanih uzoraka izolacija iz rane je nemoguća (6,12,13).

### ***Fingoldia magna***

Za razliku od *Peptoniphilus* spp, *Fingoldia magna* je izrazito patogeni gram-pozitivni anaerobni kok. Posjeduje brojne čimbenike virulencije, a osobitost je da se najčešće izolira u čistom uzgoju (14). Pri povoljnim uvjetima nalazimo je u velikom broju. Uzročnik je širokog dijapazona infekcija, od lokalnih infekcija rana do osteomijelitisa i za život opasnih abscesa mozga (15,16). Infekcija rane može se razviti u progresivnu sinergističku gangrenu, nekrotizirajući fasciitis ili krepitirajući celulitis (17). Navedene kliničke slike treba zbog ciljanog načina liječenja razlikovati od onih koje uzrokuju  $\beta$ -hemolitički streptokoki sa stafilokokima ili pak klostridije (6,13,18).

### ***Bacteroides ureolyticus* – *Campylobacter ureolyticus***

*Bacteroides ureolyticus* je gram-negativni anaerobni, asporogeni štapić ili kokobacil. Ne raste na diferencijalnoj podlozi *Bacteroides*-žuči-eskulin (BBE). Kolonije su mu

mukoidno-prozirne, za razliku od čestog izolata *Bacteroides fragilis*, od kojeg se bitno razlikuje u osjetljivosti na antibiotike ali i taksonomski. Ključni za identifikaciju su: karakterističan oblik u preparatima obojenima po Gramu, osobitosti rasta na specijalnoj podlozi koja sadrži formatom i fumarat, koja je ujedno i selektivna podloga za ostale anaerobe, te otpornosti na antibiotike. Po fenotipskim osobitostima sličan je *Campylobacter* spp, ali *Bacteroides ureolyticus* isključivo raste anaerobno. U reklasifikaciji iz 2010. godine pripao je u rod *Campylobacter* pod nazivom *Campylobacter ureolyticus* (19). Može biti član fiziološke flore čovjeka i životinja. Širi se endogeno i egzogeno (ugriz). Uzročnikom je infekcija mekih tkiva najčešće, ali i kosti, pluća, intraabdominalnih te urogenitalnih organa (6,10).

### **Značenje članova fiziološke flore**

Šarolika skupina gram pozitivnih štapića iz roda *Corynebacterium* zastupljena je sa tri značajnija predstavnika koji su uzročnici infekcije kronične rane. To su: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Corynebacterium jeikeum* (grupa JK) i *Arcanobacterium (cory) haemolyticum*. Svi su članovi fiziološke flore čovjeka, koji je ujedno i rezervoar vrsta, a mogu biti i flora životinja – preživača. Uzrokuju široki dijapazon infekcija, pa i infekciju kronične rane u imunokompromitiranih bolesnika. Uzročnici su bolničkih infekcija, a mogu se javiti i u mješovitim infekcijama u kombinaciji s virusima. Uzročnici su oportunističkih infekcija – kao posljedica kontakta sa životinjama, pa je uz ciljani uzorak ključna dobra epidemiološka anamneza (20).

*Corynebacterium pseudotuberculosis*, primarno je uzročnik infekcija u konja, goveda, koza, srna. Prvo izvješće o izolatu potječe iz Australije (21). *Corynebacterium jeikeum* (skupina JK) član je fiziološke flore bolesnika, dominantno s neoplastičkim bolestima u kojih su prisutni brojni rizični čimbenici kao što su prolongirana neutropenija, primjena antibiotika, duga hospitalizacija. Smatra se i bolničkim patogenom. Osobitost mu je višestruka rezistencija na antibiotike (22). Uzročnik je infekcija rana u 25% slučajeva (23). *Arcanobacterium (cory) haemolyticum* također je član fiziološke flore čovjeka. Uzrokuje infekcije različitih lokalizacija u imunonekompetentnog domaćina i kronične vrijedove kože (24). Uobičajeno se javlja u mješovitim infekcijama, a osobitost mu je da sinergistički djeluje u kombinaciji sa Epstein-Barrovim virusom (25).

### **ZNAČENJE MIKROBA IZ OKOLINE**

#### ***Mycobacterium fortuitum* kompleks**

Tijekom proteklih godina intenzivno su se istraživale netuberkulozne mikobakterije (NTM – engl.

*NonTuberculosis Mycobacteria*) uključujući i brzo rastuće mikobakterije (RGM – engl. *Rapidly Growing Mycobacteria*) čije su brojne vrste i filogenetske skupine identificirane kao humani patogeni. To uključuje primarno grupe *Mycobacterium fortuitum*, te *Mycobacterium chelonae* – *Mycobacterium abscessus* (26). RGM vrste rastu brzo, nakon 7 dana na specifičnim podlogama. Nisu pigmentirane i posjeduju dugolančane masne kiseline, poznate kao mikolična kiselina. Identifikacija zahtijeva specifične molekularne metode testiranja i identifikacije. Za dijagnostiku je značajno da se pri sumnji na RGM, ciljani uzorak mora poslati u referentni laboratorij. Osobitosti RGM: svi su oportunistički patogeni, glavni rezervoar uzročnika je slatkovodna tekuća voda, ali mogu biti i bolesnici s kroničnim infekcijama pluća. Infekcije su uobičajeno sekundarne, često bolničke, a očituju se kao infekcije posttraumatskih rana, diseminirane kožne infekcije, diseminirani furunkuli kože (7,27). Razvoj infekcije je polagan, 4-6 tjedana nakon ozljede (28). Predispozicijski čimbenici za razvoj infekcije su: imunonekompetentni i imunokompromitirani bolesnici, te primjena kortikosteroida i citostatika. Osobitost je, ali i iznimka, da tijekom imunosupresije prilikom liječenja AIDS-a, liječenje nije značajni čimbenik akviriranja i razvoja infekcije s RGM (29).

Od eksponirajućih čimbenika značajni su kontaminirani bazeni pri pedikuri (6). Liječenje uključuje debridement i antimikobakterijsko liječenje tijekom  $\geq 6$  mjeseci (30). Ciljani uzorak je bioptat. Značajno za postavljanje pravilne dijagnoze je precizna epidemiološka, osobna anamneza i ciljani uzorak (31).

### ***Vibrio alginolyticus***

*Vibrio alginolyticus* pripada porodici *Vibrionaceae*. Osobitost svih pripadnika porodice je da su primarno akvatični rezidenti slatke ili slane vode. *Vibrio alginolyticus* nalazimo u najvećoj koncentraciji u toplim priobalnim morskim vodama. Količina ovisi o temperaturi vode, koncentraciji  $\text{Na}^+$  iona, koncentraciji organske otpadne tvari, a sve to čini osobit ekosistem. Značajno je da su ti mikrobi „održivi-vidljivi“, ali neuzgojivi na hranjivim podlogama pa se još nazivaju i „ozlijeđene bakterijske stanice“. *Vibrio alginolyticus* uzrokuje infekcije rana koje su eksponirane slanoj - morskoj vodi, ali i upale uha, sepsu u imunokompromitiranih bolesnika (32-35). Značajno je da nije crijevni patogen. Najčešće se izolira iz toplih priobalnih morskih voda u SAD-u, Tajlandu, ali i drugdje, ovisno o osobitostima ekosistema (36,37).

### **CILJANI UZORCI**

S obzirom da je rijetke, neuobičajene ili atipične uzročnike infekcija rana teško dokazati, ciljani uzorci su:

bioptat - „zlatni standard“ i/ili aspirat, pri prisustvu značajne količine eksudata.

#### *Kliničke indikacije za bioptat (1)*

- lokalni znaci infekcije u progresiji
- sistemski znaci infekcije
- leukocitoza
- povišene vrijednosti CRP-a i glukoze u serumu
- intenziviranje boli
- necijeljenje čiste rane uz optimalnu skrb  $\geq 14$  dana
- perzistiranje vrieda  $\geq 3$  mjeseca
- vrijed ne cijeli uz ciljano liječenje

#### *Ciljani uzorci obvezni su pri (1):*

- progresiji i raspadu ležišta rane
- povećanju veličine, dubine rane
- izolaciji višestruko otpornih mikroba
- nepostojanju kliničkog odgovora na empirijsko antimikrobno liječenje

Pri sumnji na infekciju atipične kronične rane potrebno je navesti (38):

- preciznu povijest bolesti
- epidemiološku anamnezu
- fizikalni pregled
- kliničke podatke o rani:
  - tip i opis
  - lokalizacija
  - trajanje
  - pridružene bolesti
  - znaci infekcije
  - primijenjena antimikrobna terapija

### **POSTUPCI DEKONTAMINACIJE RANE**

Bez obzira na vrstu lezije, prije uzimanja uzorka ranu moramo dekontaminirati, jer treba ukloniti površinsku mikrobnu floru, krustu, nekrozu, obilan eskudat. Cilj je reducirati mikroorganizme koji koloniziraju ranu. Leziju se ne može potpuno „obeskliti“, ali se ukupna količina mikroflora može smanjiti do 20%. Ovisno o statusu i vrsti lezije, procjena o dekontaminaciji donosi se individualno.

Postupci su:

1. mehaničko čišćenje
2. dekontaminacija antiseptikom
3. debridement kirurški ili enzimatski

#### *Mehaničko čišćenje fiziološkom otopinom*

Najčešće primjenjivana metoda dekontaminacije rane jest mehaničko čišćenje kojim se uklanjaju nekroza,

debris, mikrobi, ostaci ovoja, biofilm, a izvodi se ispiranjem (irigacijom). Postupak čišćenja rane ispiranjem provodi se na temelju preporuka *Agency for Health Care Policy and Research (AHCPR)* iz 1998.; i to kako slijedi:

- za ispiranje rane primijeniti sterilnu, na 37°C zagrijanu, ne stariju od 24 sata fiziološku otopinu, u količini od 30 mL
- navući fiziološku otopinu u štrcaljku od 35 mL, te staviti iglu kalibra 19 ganga ili krvožilni kateter
- ukloniti zaštitne ovoje s rane
- vrh igle ili katetera udaljiti od površine rane 2,5-5,0 cm
- potiskom jakost 4-15 PSI (PSI, od engl. *Pounds Per Square Inch* ili težina od 435,59 grama na kvadrat veličine 2,54 cm) oprezno isprati površinu rane fiziološkom otopinom. Postupak treba ponoviti tri puta. Jakost mlaza može oštetiti tkivo i u njega instilirati bakterije ili dispergirati mikrobe u okolicu. Zbog toga treba postupak provoditi vrlo pažljivo.
- Čišćenje rane fiziološkom otopinom nema citostatički učinak na tkivo, ne dovodi do odgođena cijeljenja. Primjenjuje se u svim fazama cijeljenja, pri akutnim i kroničnim ranama, te nakon primjene antiseptika. Irigacija rane moguća je štrcaljkom, ali i tuširanjem. Umjesto fiziološke otopine, moguće je primijeniti i tekuću vodu – oprez! (40)

### **Dekontaminacija antiseptikom**

Dekontaminacija antiseptikom ovisi o vrsti rane i o fazi cijeljenja. Primjena je antiseptika ciljana, vremenski ograničena, a procjena s obzirom na bolesnika individualna:

- jedina prava indikacija za primjenu antiseptika jest akutna faza akutne rane, do početka stvaranja granulacija.
- sve su ostale indikacije dvojbene s obzirom na supresiju mikroflore ozljede i citotoksično djelovanje na stanice domaćina, te odgođeno cijeljenje rane, što rezultira nekontroliranom skrbi o rani.

Indikacije za primjenu antiseptika donose se s obzirom na individualnog bolesnika pri:

- inficiranoj akutnoj i kroničnoj rani uz prisutnost nekrotičnog tkiva
- akutnoj ozljedi nakon traume
- kroničnoj rani u dijabetičara i imunokompromitiranih neutropeničnih bolesnika Preporuke: FDA 1998, 2003; *American Medical Association* 2005; *Capital Care Group USA* 1997, 2005; *European Tissue Repair Society* 1997.

Nakon dekontaminacije rane antisepticima ranu treba isprati fiziološkom otopinom da bi se izbjeglo potencijalno citotoksično djelovanje antiseptika. Sigurna indikacija za primjenu antiseptika jest dekontaminacija okolice rane (koža) i kože iznad zatvorenog apscesa radi uklanjanja mikroflore iz okoline, te tako sprječavanja dodatne kontaminacije rane. To se čini pomoću sterilnog „tupfera“ natopljenog u antiseptiku, kružnim ili jednosmjernim pokretima, ponovljenim tri puta (39).

### **Debridement**

*Debridement* je aseptički postupak koji slijedi nakon mehaničkog čišćenja rane. Inicijalni ili kirurški debridement je „Zlatni standardni postupak“ za uzimanje bioptata, ali mogu se primijeniti i ostale vrste (enzimatski/obloge) (1).

### **CILJANI UZORCI**

Bez obzira na vrstu uzorka, svi ciljani uzorci uzimaju se nakon dekontaminacije rane.

Ciljani uzorci su:

- bioptat tkiva – „Zlatni standard“, i/ili
- aspirat eksudata

### **Bioptat tkiva**

Bioptat tkiva uzima se nakon dekontaminacije rane kada je uklonjeno devitalizirano tkivo i ekspanira se zdravo ili granica zdravog i bolesnog tkiva. Bioptat se uzima „*punch*“ biopsijom sa 3-4 mjesta ili kirurškom biopsijom sa 2 mjesta, koja valja zabilježiti. Veličina bioptata iznosi  $\geq 1$  g tkiva. Uzorak se uzima na granici inficiranog i zdravog tkiva ili dio stijenke apscesa. Transportira se u mikrobiološki laboratorij u sterilnoj posudici odmah ili unutar 1-2 sata. Iznimno se uzorak može pohraniti u transportnu podlogu, do 12 sati pri sobnoj temperaturi 22-25°C. Takav ciljani uzorak uz precizne podatke dostatan je za klasičnu mikrobiološku obradu, ali i za molekularne metode (11,38,39).

### **Aspirat eksudata**

Aspirat eksudata također se uzima nakon dekontaminacije rane. Eksudat iz lezije aspirira se štrcaljkom, u količini  $\geq 1$  mL. Odmah nakon uzimanja na štrcaljku se stavlja „kapica“ (ne igla!) ili se sadržaj stavlja u sterilnu posudicu s transportnom podlogom ili bez nje. Sadržaj treba aspirirati s dna lezije ili ispod rubova lezije koje smo prije aspiracije lagano pritisnuli, tako da izađe sadržaj. Uzorak treba transportirati u štrcaljki s „kapičom“ ili u sterilnoj posudici odmah ili unutar 1-2 sata. Ključno je za kvalitetan uzorka manipulaciju smanjiti na minimum (31).

## ZAKLJUČAK

Pri dijagnostici oportunističkih patogena ili atipičnih uzročnika infekcija kroničnih rana nužna je temeljitost, strpljenje, te revizija bolesnika, dijagnoza, liječenja i uzoraka. Ključno za otkrivanje uzročnika infekcija atipičnih rana je rasprava i dogovor s kliničkim mikrobiologom. Bitno za kvalitetnu dijagnostiku je dekontaminacija rane prije uzimanja ciljanih uzoraka pri čemu je kirurški debridement najkvalitetniji, ali nije uvijek i moguć. Ciljani uzorak je bioptat – zlatni standard, rjeđe aspirat što ovisi o količini i sadržaju rane. Obrisak kao uzorak se ne preporuča. Ako nema drugog izbora, iznimno se mogu uzeti i površinski obrisci, ali samo uz sljedeće uvjete: dekontaminacija rane uz primjenu Lavinove ili Z-tehnike uzimanja obrisaka (31). Značajno je upamtiti da je i broj uzoraka ključan za dijagnostiku, pa je minimalan broj 2, a optimalan 4, s različitim dijelovima rane.

## LITERATURA

- Percival SL, Dowd SE. The Microbiology of Wounds. New York: CRC Press, 2010,187-210.
- Anoun. Wound infection in clinical practice. An International Consensus. Int Wound J 2008; 5: 3-11.
- Rowlinson MC, Le Bourgeois P, Ward K, Song YL, Finegold SM, Bruckner DA. Isolation of a strictly anaerobic strain of *Staphylococcus epidermidis*. J Clin Microbiol 2006; 44: 857-60.
- Howell-Jones RS, Wilson MJ, Hill KE i sur. A review of the microbiology, antibiotic usage and resistance in chronic skin wounds. JAC 2005; 55: 143-9.
- Jiang W, Abrar S, Romagnoli M, Carroll KC. *Clostridium glycolicum* wound infection: case reports and review of the literature. J Clin Microbiol 2009; 47: 1599-601.
- Murray PR, Baron JE, Jorgenson JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of clinical microbiology. Vol. 1. 9th ed. Washington, DC: ASM Press, 2007.
- Vergheze S, Madhusudhn B, Senthil MS i sur. Chronic post-operative wound infection caused by *Mycobacterium fortuitum* complex. J Commun Dis 2007; 39: 257-9.
- Sebeny PJ, Ridle MS, Peterson K. *Acinetobacter baumannii* skin and soft-tissue infection associated with war trauma. Clin Infect Dis 2008; 47: 444-9.
- Elston JW, Bannan CL, Chid DT, Boutlis CS. *Acinetobacter spp* in gunshot injuries. Emerg Infect Dis 2008; 14: 178-80.
- Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. Clin Microbiol Rev 2001; 2: 244-69.
- Kučičec-Tepeš N. Mikrobiologija rane. U: Hančević J i sur. ABC kirurške svakidašnjice. II dio. Zagreb: Medicinska naklada, 2006, 240-301.
- Bourgault AM, Rosenblatt JE, Fitzgerald RH. *Peptococcus magnus*: a significant human pathogen. Ann Intern Med. 1980; 93: 244-8.
- Finegold SM. Anaerobic infections in humans: an overview. Anaerobe 1995; 1: 3-9.
- Karlsson C, Andersson ML, Collin M, Schmidtchen A, Björck L, Frick IM. SufA-a novel subtilisin-like sterine proteinase of *Finegoldia magna*. Microbiology 2007; 12: 4208-18.
- Martin J, Bemer P, Touchais S, Asseray N, Corvec S. Recurrent abscessus due to *Finegoldia magna*, *Dermabacter hominis* and *Staphylococcus aureus* in an immunocompetent patient. Anaerobe 2009; 5: 201-3.
- Brook Y. Microbiology and management of joint and bone infections due to anaerobic bacteria. J Orthop Sci 2008; 13: 160-9.
- Levy PY, Fenollar F, Stein A, Borrione F, Raoult D. *Finegoldia magna*: a forgotten pathogen in prosthetic joint infection rediscovered by molecular biology. Clin Infect Dis 2009; 49: 1244-7.
- Song Y, Liu C, Mc Teague M, Finegold SM. 16 s ribosomal DNA sequence-based analysis of clinically significant gram-positive anaerobic cocci. J Clin Microbiol 2003; 41: 1363-9.
- Vandamme P, Debruyne L, De Brandt E, Falsen E. Reclassification of *Bacteroides ureolyticus* as *Campylobacter ureolyticus* comb.nov. and emended description of the genus *Campylobacter*. Int J Syst Evol Microbiol 2010; 60: 2016-22.
- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Vol. 2. Fifth Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005.
- Peel MM, Palmer GG, Stacpoole AM i sur. Human lymphadenitis due to *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Clin Infect Dis 1996; 24: 185-91.
- Khabbaz RF, Kaper JB, Moody MR i sur. Molecular epidemiology of group JK *Corynebacterium* on a cancer ward. J Infect Dis 1986; 154: 95-9.
- Dan M, Somer I, Knobel B i sur. Cutaneous manifestations of infection with *Corynebacterium* JK. Rev Infect Dis 1988; 10: 1204-7.
- Esteban I, Zapardiel I, Soriano F. Two cases of soft-tissue infection caused by *Arcanobacterium haemolyticum*. Clin Infect Dis 1994; 18: 835-6.
- Givner LB. *Arcanobacterium haemolyticum* sepsis in Epstein-Barr virus infection. Pediatr Infect Dis J 1992; 11: 417-8.
- Griffith DE, Aksamit T, Brow-Elliot BA i sur. An official ATS/IDSA Statement, treatment and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. Am J Respir Crit Care Med 2007; 175: 367-416.
- Bhambri S, Bhambri A, Del Rosso IQ. Atypical mycobacterial cutaneous infections. Dermatol Clin 2009; 27: 63-73.
- Porat MD, Austin MS. Bilateral knee periprosthetic infection with *Mycobacterium fortuitum*. I Arthroplasty 2008; 23: 787-9.
- Wagner D, Young LS. Nontuberculous mycobacterial infections: a clinical review. Infection 2004; 32: 257-70.
- Esteban I, Ortis-Pérez A. Current treatment of atypical mycobacteriosis. Exp Opin Pharmacother 2009; 10: 2787-99.
- Kučičec-Tepeš N. Mikrobiološka obrada uzoraka i interpretacija nalaza. Acta Med Croatica 2010; 64 (Supl 1): 89-99.
- Holt H, Christensen II, Bruun B, Glismann S. Infections with seawater bacteria. 2010. <http://www.ssi.dk/english/News/Epi-News/>
- Reilly GD, Reilly CA, Smith EG, Bakter-Austin C. *Vibrio alginolyticus* – associated wound infection asquired in Brit-

- ish waters, Guernsey, July 2011. Euro Surveill 2011; 16: pii:19994.
34. Barbarossa V, Kučičec-Tepeš N, Aldova E, Matek D, Stipoljev F. Ilizaron technique in the treatment of chronic osteomyelitis caused by *Vibrio alginolyticus*. CMJ 2002; 43: 365-8.
  35. Kučičec-Tepeš N, Barbarossa V, Hohnjec V, Bejuk D, Aldova E. *Vibrio alginolyticus* – causative agent of chronic osteomyelitis. Antiinfective drugs and chemotherapy 2000; 1: 68.
  36. Summary of notifiable diseases in United States 2009. <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/mm5853.pdf>.
  37. Hiransuthikul N, Tantisiriwat W, Lertusahakul K, Vibhagool A, Boonma P. Skin and soft-tissue infections among tsunami survivors in Southern Thailand. Clin Infect Dis 2005; 41: 93-6.
  38. Brynt RA, Nix DP. Acute & Chronic Wounds. Current Management Concepts. III ed. USA: Mosby-Elsevier, 2007.
  39. Bowler PG, Duerden BJ, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 244.
  40. Flanagan M. Wound management. New York: Churchill Livingstone, 1997.

## SUMMARY

### ATYPICAL AGENTS OF WOUND INFECTION AND TARGETED SAMPLES

N. KUČIŠEC-TEPEŠ

*Croatian Academy of Medical Sciences, Zagreb, Croatia*

All open wounds are primarily contaminated and subsequently colonized by microorganisms, predominantly bacteria. Only about 30% of chronic wounds are also infected. Factors which favor the development of infection are the following: large quantity of bacteria, presence of virulence factors, their quantity and number, predominantly the synergy of aerobic and anaerobic bacteria, and formation of biofilm. Common agents of infection of acute and chronic wounds are *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Streptococcus β-haemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides* spp., and *Candida albicans*. Difference between acute and chronic wound is in the predominance of individual agents, with an observation that *Staphylococcus aureus* is predominant in both cases. Atypical agents of chronic wound infection are rare, unusual, not found in the area in which we live, not proven by standard microbiological methods, but molecular methods are needed instead. They are predominantly opportunists, varying in the expression of virulence factors, or they have changed their phenotype characteristics and are not the agents of primary wound infections. They are the agents of secondary infections. Atypical agents of the chronic wound infection are diverse, from the anaerobe group, *Peptoniphilus* spp., *Anaerococcus* spp., *Bacteroides ureolyticus*, *Fingoldia magma*, the group of gram positive rods of the *Corynebacterium* genus, the group of bacteria from aquatic environment *Mycobacterium fortuitum complex*, and *Vibrio alginolyticus*. The targeted samples are biopsy sample as the “gold standard” and/or aspirate, when a significant quantity of exudate is present. Targeted samples are obligatory when there is a progression and decomposition of the base of the wound, increase in the size or depth of the wound, isolation of multiresistant microbes, or absence of clinical response to empirical antimicrobial therapy. In the diagnosis of opportunistic pathogens or atypical agents of chronic wound infection, it is necessary to be thorough, meticulous, and conduct revision of the patient, diagnosis, treatment and samples. Crucial for the detection of the agents atypical wound infection is discussion and agreement with clinical microbiologist. Essential for the quality diagnosis is decontamination of the wound before taking targeted samples. The targeted sample is biopsy specimen as the “gold standard”, less frequently aspirate, depending on the quantity and content of the wound. Swab as a sample is not recommended. If there is no other choice, only exceptionally surface swabs may be taken, but only under the following conditions: decontamination of the wound with the application of Levine’s or Z-technique of taking of swabs.

**KEY WORDS:** opportunists, physiological flora, environmental bacteria, biopsy specimen, aspirate