

KAN KÜLTÜRÜ

UYGULAMA KILAVUZU

YAZARLAR

Ahmet Başustaoğlu Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Ankara	Mustafa Güney Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Ankara
Aydan zktk Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D., İzmır	Nezahat Gürler İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D., İstanbul
Ayşe Esra Karakoç Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara	Rahmet Güner Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klin. Mik. Kliniği
Dilek Arman Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klin. Mik. A.D., Ankara	Şebnem Erdinç Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klin. Mik. Kliniği, Ankara
Gl Ruhsar YILMAZ Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klin. Mik. Kliniği, Ankara	Yavuz Uyar İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
İlker İnanç Balkan İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klin. Mik. AD, İstanbul	Zeynep Gülay Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D., İzmır
Melda Sınırtaş Uludağ Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, BURSA	Dilek YAĞÇI Çağlayık Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ankara

DANIŞMA KURULU

Ahmet Başustaoğlu Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Ankara	Murat Dizbay Gazi Üniversitesi, Tıp Fakóltesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Kl. Mik. A.D., Ankara
Ayşe Esra Karakoç Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara	Nezahat Gürler İstanbul Üniversitesi Tıp Fakóltesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D., İstanbul
Dilek Arman Gazi Üniversitesi, Tıp Fakóltesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Kl. Mik. A.D., Ankara	Rahmet Güner Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klın. Mik. Kliniği, Ankara
Emel Eryüksel Marmara Üniversitesi Tıp Fakóltesi Göđüs Hastalıkları ve Yoğun Bakım ABD	Sercan Ulusoy Ege Üniversitesi, Tıp Fakóltesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klın. Mik. A.D., İzmir
Güner Söyletir Marmara üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD. İstanbul	Serhat Ünal Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakóltesi Enfeksiyon Hastalıkları A.D., Ankara
İlker İnanç Balkan İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakóltesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Kl. Mik. A.D., Ankara	Şebnem Erdinç Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klın. Mik. Kliniği, Ankara
Melda Sınırtaş Uludağ Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, BURSA	Yavuz Uyar Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire BaŐkanlıđı, Ankara
Muhammed Güzel Kurtoğlu Kamu Hastaneleri Kurumu BaŐkanlıđı Ankara	Zeynep Gülay Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D., İzmir

ÖNSÖZ

Kan kültürü bakteriyeminin nedenini tespit etmek ve uygun tedavi konusunda klinisyeni yönlendirmek açısından en önemli tanı yöntemidir. Erken tanı en uygun tedavinin seçilmesini sağlayacaktır. Uygulamadaki farklılıklar yalancı pozitiflik oranlarını yükseltmektedir ve hastanı tedavisinde yanlışlıklara, mortalite ve morbidite oranlarının yükselmesine neden olmaktadır.

Bu kılavuzu hazırlama amacımız ülkemizdeki “Kan Kültürü” konusunda standart bir uygulama sağlayarak kaliteyi artırmak, riski azaltmak, kontaminasyon oranlarını düşürmek ve böylelikle yalancı pozitifliğe bağlı sağlık giderlerini azaltmaktır. Bu öneriler; kan kültürünün doğru endikasyon ile, doğru zamanda, doğru teknikle alınmasını sağlayacaktır. Bu önerilerin sağlık kuruluşunuza uyarlanması sisteminizin ve klinik uygulamalarınızın kalitesini ve başarısını artıracaktır.

Bu kılavuz; içerdiği konu başlıkları ile kan kültürü uygulayan tüm sağlık kuruluşlarına ışık tutacak önerileri içermektedir.

Bu kılavuzun hazırlanmasına destek olan meslektaşlarımıza ve desteklerini esirgemeyen derneklerimize (Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği, Türk Hastane Enfeksiyonları ve Kontrolü Derneği, Türk Dahili ve Cerrahi Bilimler Yoğun Bakım Derneği) çok teşekkür ederiz.

Ahmet Başustaoğlu

Editör

(Yazarlar ve Danışma Kurulu Adına)

İÇİNDEKİLER

1		Giriş	
2		Tanımlar	
3		Kan Kültürünün Klinik Önemi	
	3.1	Tanıdaki Önemi,	
	3.2	Kan kültürü alım endikasyonları	
	3.3	Kan kültürlerinin alınmasında genel prensipler	
	3.4	Klinik laboratuvar iletişimi	
4		Klinikte Örnek Alımı (Dilek Arman) Kandan patojen saptanmasında kritik faktörler ✓ Zamanlama, Hacim (Kan Broth oranı)(yetişkin-pediatric), Standart kan kültür setlerinin oluşturulması, Olası nadir enfeksiyon etkenine göre şişe seçimi, set oluşturulması, Set sayısı ve tanısal, klinik önemi ✓ Cilt Dezenfeksiyonu, kontaminasyonun önlemi ✓ Kan kültürü alımı ✓ İstem formunda olması gereken bilgiler ✓ Örnek alımı sonrası dikkate alınması gereken noktalar (Hasta başında takip edilmesi gereken kontrol listesi) ✓ Klinikte göz önünde bulundurulması gereken laboratuvar red kriterleri	
5		Transportu ✓ Laboratuvara güvenli ve uygun sürede transport, Gecikmeli şişe girişi tanısal yansıması	
		Laboratuvara kabulde dikkat edilmesi gereken noktalar ve red kriterleri ✓ Hacim (Kan Broth oranı), Şişe sayısı (set	

		kurallarına uygunluğu), Transport koşullarına uygunluğu (süre, fiziksel özellikler, vs), İstem formu ve etiketleme(hastanın adı, alınma saati, lokalizasyonlar, ateşi vs)	
		Kan kültürlerinin inkübasyonu ve incelenmesi ✓ Kullanılan otomatize sistemlerde standart inkübasyon koşullarının ayarlanması (Isı, Atmosfer,İnkübasyon süresi, Çalkalama, İzleme sıklığı gibi) ✓ Belirlenen inkübasyon süresi sonunda pozitif ve negatif şişeleri yapılması gerekenler a. Negatif şişelere uygulanması gerekenler (boyama ve uygun besiyerine pasajlayarak yalancı negatiflik kontrolü) b. Pozitif şişelere uygulanması gerekenler (Gram boyama ve uygun besiyerine pasajlayarak etkeni izole etme veya yalancı pozitiflik kontrolü) 1. Konvansiyonel ve Otomatize yöntemler ile ATB 2. Kültür şişesinden doğrudan identifikasyonu (mal-di-tof, otomatize identifikasyon sistemleri veya PCR gibi)	
		Sonuçların değerlendirilmesi ve raporlama a. Kontaminasyon olarak yorumlama kriterleri b. Etken olarak yorumlama kriterleri c. Raporlama yöntemleri i. 24 saatte raporlama (üreme negatif) ii. 48 saatte raporlama (üreme negatif) iii. Üreme olduğunda boyama sonucunun kliniğe bildirim iv. İdentifikasyon ve ATB sonrası raporlama v. İzolatların sonraki testler için saklanması	
		Kolonize vasküler kateter kaynaklı enfeksiyonları	

		laboratuvar tanısı	
		Standart besiyerlerinde üremesinde güçlük çekilen mikroorganizmaların saptanmasında konvansiyonel yöntemler	
		Örneğin laboratuvarda işleme alınması sırasında dikkat edilmesi gereken biyogüvenlik uygulamaları	
		Kalite Güvence ✓ Çalışma öncesi işlemler, Çalışma sırasındaki işlemler, Çalışma sonrası işlemler	
		Kaynaklar	

1. Giriş

Sepsis retiküloendotelial sistemin ortadan kaldırabileceği kapasitesinin üzerindeki mikroorganizma varlığı ile ortaya çıkan bir tablodur. Tüm dünyada sepsis insidansı gittikçe artmaktadır. Amerika Birleşik Devletlerinde yıllık vaka sayısının 700.000 civarında olduğu, dünya genelinde ise yıllık 18 milyon, günlük ölüm sayısının ise 20.000 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Bu verilerin yanında sepsis en pahalı hospitalizasyon nedenidir. Sepsise bağlı mortalite ve morbiditenin yüksek olması nedeniyle hızlı ve doğru tanı hastanın tedavisi açısından çok önemlidir. Bunun içinde uygulanması gereken ilk test “Kan Kültürü”dür.

Kan kültürü konusunda yıllardır yüzlerce çalışma yapılmış ve etkenlerin hızlı izolasyonu için en uygun besiyeri ve ortamlarının geliştirilmesi sağlanmıştır. Hızlı tanı için nükleik asit problemleri ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi çeşitli moleküler yöntemler geliştirilmiş olmasına rağmen, hala en duyarlı ve güvenilir yöntem kan kültürüdür(**Referans verilebilir mi ?**)Günümüzde manuel ve otomatize birçok sistem klinik kullanıma sunulmuştur. Kan kültürü için tam otomatize sistemler en çok tercih edilen ve güvenilir yöntemlerdir. Bu sistemlerde üremenin saptanma süresinin kısalmasının yanı sıra kan kültür şişelerinin zengin besiyeri içeriği nedeniyle olası patojenlerin büyük kısmını üretme özelliğine sahiptir. Örnek uygun şişelere alındığı takdirde aerobik, anaerobik, fungal ve mikobakteriyel etkenler kolaylıkla izole edilebilmektedir. Enfeksiyonun lokalize olması, örneğin doğru zamanda alınmaması, yetersiz kan alımı veya hastanın antibiyotik tedavisi alıyor olması gibi nedenlere bağlı olarak uygulamalarda pozitiflik oranı yaklaşık 1/3'dür.

Pozitif kan kültürlerinin büyük kısmı gerçek kan dolaşımı enfeksiyonlarına bağlıdır. Üreyen mikroorganizmaların en kısa sürede saptanarak etken veya bulaş (kontaminant) olup olmadığının ortaya konması, etken olarak kabul edilen mikroorganizmanın antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılarak tedavinin doğru yönlendirilmesi mortalite, morbiditenin ve sağlık giderlerinin azaltılmasında çok önemlidir.

Kan kültürü uygulamaları hastaneler/klinikler arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar özellikle kan örneğinin alınması sırasındaki uygulamalar (zamanlama, cilt antisepsisi, şişe sayısı gibi), şişelerin laboratuvara ulaştırılması ve üreyen mikroorganizmaların yorumlanması aşamalarında karşımıza çıkmaktadır. Uygun alım tekniklerinin kullanılması kan kültürünün kontaminasyonunu azaltacak ve doğru sonuçların çıkmasını sağlayacaktır. Buda hastane ve laboratuvar giderlerini ve gereksiz antibiyotik kullanımını azaltacaktır.

Laboratuvar uygulamaları açısından ise enfeksiyon etkeninin hızla izole edilmesi, doğru tanımlanması, sonuçların doğru yorumlanması ve doğru antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması klinik mikrobiyoloji laboratuvarının en önemli görevlerinden birisidir. Ayrıca, özellikle bulaş olabilecek mikroorganizma üremelerinde ve çeşitli nedenlerle birden fazla örneğin alınamadığı durumlarda etken/bulaş ayırımının yapılabilmesi klinik mikrobiyoloji laboratuvarı için önemli bir noktadır.

Üretici firmaların önerileri ve birçok merkezin klinik deneyimleri göz önüne alınarak dünyada birçok merkez ve üniversite tarafından "Kan Kültürü Uygulama Kılavuzları" yayınlanmıştır. Bu kılavuzlar ile genel uygulama bütünlüğü, hızlı tanı, hızlı, doğru tedavi imkanları yaratılmaya çalışılmıştır. Bu kılavuzlar arasında uygulama farklılıkları söz konusu olabilmektedir.

Kliniklerde kan kültürü alınmasına karar veren hekimlerden başlayarak örnek alımını gerçekleştiren personelin (hemşire, intern gibi) zamanlama, uygun cilt temizliği, etiketleme (şişe üzerine bilgilendirme) ve transport konularında özel eğitime alınması kritik önem taşımaktadır. Özellikle kontaminasyon (bulaş) oranlarının yüksek (yalancı pozitiflik >%3) olduğu merkezlerde yapılan eğitim uygulamaları bu oranı ciddi anlamda düşürmekte ve hastane giderlerini de azaltmaktadır.

Tablo-1 Kan kültüründen sıklıkla izole edilen mikroorganizmalar	
Gram Pozitifler <ul style="list-style-type: none">▪ <i>Staphylococcus aureus</i>▪ Viridans streptokoklar▪ <i>Streptococcus pneumoniae</i>▪ <i>Streptococcus pyogenes</i>	Gram Negatifler <ul style="list-style-type: none">▪ <i>Salmonella typhi</i>▪ Diğer <i>Salmonella</i> serovaryları▪ <i>Brucella</i> spp.▪ <i>Haemophilus influenzae</i>

<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Enterococcus faecalis</i> ▪ <i>Clostridium perfringens</i> ▪ Anaerobik streptokoklar <p>Mayalar</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Candida albicans</i> ve ▪ Diğer <i>Candida</i> spp. ▪ <i>Cryptococcus neoformans</i>, ▪ <i>Histoplasma capsulatum</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ▪ <i>Klebsiella</i> spp. ▪ <i>Escherichia coli</i> ▪ <i>Proteus</i> spp. ▪ <i>Bacteroides fragilis</i> ▪ <i>Neisseria meningitidis</i> ▪ <i>Yersinia pestis</i>
---	---

Ülkemizdeki hastanelerdeki kan kültürü uygulamaları konusunda yaptığımız bir anket bu konuda bir uygulama bütünlüğünün olmadığını ve bu konuda bir kılavuza ihtiyaç duyulduğunu ortaya koymuştur. Buradan yola çıkarak geniş katılımlı bir çalışma yapılarak bu kılavuz hazırlanmıştır. Bu kılavuz, sepsis tanısında örneklerin alınması, laboratuvara gönderilmesi ve laboratuvar işlemleri açısından laboratuvar çalışanları ve yöneticilerinin yanında klinisyenlere ve kliniklerde çalışan yardımcı personellere yol gösterici olacaktır.

Doğru tanımlama ve doğru antibiyotik duyarlılık testi sonucu kaliteli bir laboratuvar hizmetinin sonucudur. Ancak olası etkenlerin tanımlanması ve duyarlılık testleri konusu burada ele alınmamıştır.

2. TANIMLAR

Tanım	Açıklama
Antiseptik:	Mikroorganizmaların üremesini ve gelişmesini engelleyen madde
Bakteriyemi	Kan dolaşımında bir bakterinin bulunması hali
Belirsiz izolat	Güvenilir bir şekilde kontaminant veya gerçek pozitif olarak kategorize edilemeyen izolat
Bifazik kan kültürü sistemi:	Aynı şişede sıvı ve katı besiyerini birlikte içeren kan kültürü sistemi
Ciddi sepsis	Hipotansiyon, hipoperfüzyon veya organ yetersizliği ile

	ilişkili sepsis
Dezenfektan	Yüzeyde mevcut olabilecek bakteri, mantar veya virüslerin konsantrasyonunu azaltmak için kullanılan madde
Dolaşım sistemi enfeksiyonu	Bakteriyemi veya fungemi ile ilişkili enfeksiyon
Fazla dolum (kan hacmi)	Şişe üzerinde önerilen kan hacminin % 120'sinden daha fazla kan içeren kan kültürü şişesi
Fungemi	Kan dolaşımında bir mantarın (maya veya küf) bulunması hali
Gerçek pozitif	Bir hastalık / durum mevcut olduğunda o hastalığa yönelik testin pozitif olma hali (kan kültürü için; izole edilen mikroorganizmanın mevcut sepsisin gerçek sebebi olarak değerlendirilmesi)
Kan kültürü serileri:	Belli bir dönem içerisinde bir hastanın bakteriyemi veya fungemisi olup olmadığına karar vermek için alınan kan kültürlerinin tamamı
Kan kültürü seti	Tek girişten alınan kan kültürü şişeleri veya tüplerinin tamamı
Kan kültürü:	Hastadan alınan kanın mikroorganizmaların üretilmesi amacıyla yapılan kültürü
Klorheksidin glukonat	Cildin temizlenmesi ve dezenfeksiyonu için kullanılan madde (klorheksidinin diglukonat tuzu)
Kontaminant	Kan örneğinin alındığı hasta için patojen olmayan, örneğin alınması veya işlenmesi sırasında kan kültürüne bulaşan, örneğin alınması sırasında hastanın kanında mevcut olmayan mikroorganizma
Kültür	Bakteri ve/veya mantar gibi mikroorganizmaların bilimsel bir araştırma veya klinik tanı amacıyla kontrollü bir ortamda üretilmeleri
Kültür besiyeri	Mikroorganizmaların üretilmesi/ kültürü için kullanılan / hazırlanan madde veya formülasyon
Manuel kan kültürü	Otomatize veya mekanik herhangi bir sistem

sistemi	kullanmadan şişelerin işlendiği kan kültürü sistemi
Mikobakteriyemi	Kanda mikobakterilerin bulunması
Otomatize kan kültürü sistemi:	Kan kültürü şişelerinin inkübasyonunu, çalkalanmasını ve üreme takibini otomatize olarak yapan sistem
Önemsiz izolat	Klinik önemi tanımlanamamış mikroorganizma
Pasaj	Ön kültür ortamından (örneğin kan kültürü şişesinden) alınan örneğin mikroorganizmaları çoğaltma / tanımlama amacıyla taze kültür ortamlarına yapılan aktarma işlemi
Povidon iyodin	Cilt dezenfeksiyonunda topikal olarak kullanılan ve suda eriyebilen polivinilpirolidon- iodin kompleksi
Pozitif şişe	(1)Mikrobiyal üreme belirtisi veren şişe(görsel veya otomatize sinyal), (2) Mikroorganizma izole edilen kültür
Sepsis sendromu	Sepsise herhangi bir organın anormal perfüzyonunun eşlik etmesi
Sepsis	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu(SIRS)'na eşlik eden enfeksiyon. Kanda mikroorganizmalar ve/veya toksinlerinin bulunmasına bağlı olarak gelişen sistemik hastalık.
Septik episod	Mikroorganizma varlığına bağlı olarak vücutta meydana gelen sepsis, sepsis sendromu veya septik şok dönemi
Septik şok	Uygun sıvı desteğine rağmen arteriyel hipotansiyonun eşlik ettiği sepsis tablosu
Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu(SIRS)	Sepsisde olduğu gibi enfeksiyöz olaylara karşı veya yanık, pankreatit gibi enfeksiyon dışı durumlarda vücudun oluşturduğu immün yanıtlar dizisidir. Doğal immün yanıtın sistemik aktivasyonu ile tetiklenen bir fizyolojik durumdur (hastada aşağıdaki durumların birden fazlasının mevcut olması; Ateş > 38°C veya <36 °C, nabız >90/dakika, solunum hızı >20/dakika, veya PaCO ₂ < 32 mmHg, lokosit sayısı >12.000 veya <4000)
Süregen bakteriyemi	bir hasta antimikrobiyal tedavi alırken devam eden bakteriyemi (Not-1:Bu tip bakteriyemi uygun olmayan

	veya yetersiz tedavi sonucu olabilir, Not-2: uygun şekilde drene edilmeyen enfeksiyon odağına bağlı olabilir)
Terminal pasaj	Rutin inkübasyon süresi sonunda üreme negatif olan kan kültürü şişesinden yapılan pasaj.
İodin solüsyonu	Cilt dezenfeksiyonunda kullanılan iyod ve potasyum iyodür'ün alkol bazlı solüsyonu
Yalancı pozitif	Üreme bulgusu gösteren bir şişenin steril olarak değerlendirilmesi. Yalancı pozitif bir izolat kontaminant olarak değerlendirilir. (Bir hastalık / durum mevcut olmadığı halde o hastalığa yönelik testin pozitif olma hali)
Yeterli kan hacmi	Şişe üzerinde önerilen hacimde kan içeren kan kültürü şişesi
Yetersiz kan hacmi	Şişe üzerinde önerilen kan hacminin % 80'inden daha az kan içeren kan kültürü şişesi

3. KAN KÜLTÜRÜNÜN KLİNİK ÖNEMİ

3.1 Kan kültürlerinin tanıdaki önemi

Yukarıda da bahsedildiği gibi tüm dünyada sepsis insidansı gittikçe artmaktadır. Sepsise bağlı mortalite ve morbiditenin yüksek olması nedeniyle hızlı ve doğru tanı hastanın tedavisi açısından çok önemlidir. Yaşayan canlı mikroorganizmaların bir hastanın kan dolaşımında varlığı, tanısal ve prognostik öneme sahiptir.

Enfeksiyon

Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu(SIRS)

Sepsis

Ciddi sepsis

Septik şok

(Bu tanımları burada açıklamak ve vurgu yapmak nasıl olur)

Bu enfeksiyonlarının varlığının ortaya konması için alınan kan kültürü sonuçlarının doğru yorumlanması, klinik mikrobiyoloji laboratuvarının olduğu kadar klinisyeninde en önemli görevlerinden birisidir. Pozitif kan kültürlerinin büyük kısmı gerçek kan dolaşımı enfeksiyonlarına bağlıdır. Üreyen mikroorganizmaların en kısa sürede saptanarak etken veya bulaş (kontaminant) olup olmadığının ortaya konması, etken olarak kabul edilen mikroorganizmanın antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılarak tedavinin doğru yönlendirilmesi mortalite ve morbiditenin azaltılmasında çok önemlidir.

3.2 Kan kültürlerinin alınma endikasyonları:

1. Bakteriemi veya fungemiden klinik olarak şüphelenilen durumlarda kan kültürü alınmalıdır.
2. Klinik olarak endokardit ön tanısı olması
3. Sepsis kliniği için aşağıdaki bulgular değerlendirmeye alınmalıdır;
 - a. Vücut sıcaklığının normal değerlerin dışında olması
 - b. Anormal nabız sayısı, düşük veya yüksek kan basıncı değerleri veya artmış solunum sayısı
 - c. Üşüme, titreme varlığı
 - d. Lökopeni veya lökositoz
 - e. Yeni veya kötüleşen konfüzyon
 - f. Sepsis bulguları çok genç veya ileri yaş hasta grubunda çok hafif olabilir veya olmayabileceği akılda tutulmalıdır.

3.3 Kan kültürlerinin alınmasında genel prensipler:

1. Kan kültürü alınması rutin bir tetkik olarak görülmemelidir, sadece klinik gereklilikler doğrultusunda kan kültürü alınmalıdır.
2. Santral venöz kateter, diyaliz kateteri gibi herhangi bir plastik enfeksiyöz odak oluşturabilecek aletten kan kültürü alınması, kateter ilişkili enfeksiyon şüphesi durumunda uygulanmalıdır.
3. Periferik damar yolundan kan kültürleri alınmamalıdır.
4. Bakteriemi veya fungemi şüphesi varlığında erişkinlerde ayrı venlerden iki set kan kültürü alınmalıdır (çocuklarda 1 veya 2 set alınmalıdır) (Bakınız Bölüm 4).

5. Kan kültürleri olası sepsis veya bakteriyemi durumunda antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır. Eğer hasta antibiyotik tedavisi alıyorsa, pediatrik hastalar dışında antibiyotik dozundan hemen önce alınmalıdır.

Bu kısma otomatize sistemlerde besiyeri içerisinde antibiyotik nötralizasyonu için gerekli 2li 3'lü reçine/ karbon kombinasyonları içermektedir. Bu sebepten hasta antibiyotik tedavisini almış olsa , kültür alma endikasyonları mevcut ise kan kültürü alınmalıdır.

Takip kan kültürlerinin iki durumda endikasyonu vardır;

1. Enfektif endokarditte bakteriyemi ya da fungeminin temizlendiğini göstermek ve tedaviye rehberlik etmek
2. *S. aureus* bakteriyemisi

Uygun antimikrobiyal tedaviye rağmen kan kültüründe üremenin devam ediyor olması enfektif endokarditte cerrahi endikasyonları arasında yer almaktadır. Enfektif endokarditte takip kültürü almanın diğer bir amacı da tedavi süresi açısından yol göstermesidir. *S. aureus* bakteriyemisinde takip kültürü alınması prognostik olarak değerlidir. 48-96. saatlerde alınan takip kültürlerinde üreme olması komplike bir bakteriyemiye işaret etmektedir .

3.4 Klinik laboratuvar iletişimi

Bakteremi veya fungemi durumunda uygun tedavinin hızla başlanması mortalitenin engellenmesi açısından son derece önemlidir. Yapılan çalışmalarla tedavideki gecikmenin mortalite üzerine olumsuz etkisi gösterilmiştir. Bu sebeple kan kültürü ile ilgili laboratuvar ile kliniğin çok iyi iletişim halinde olması gereklidir. Ampirik olarak başlanan tedavideki yetersizlik veya tedavi başlanmaması hastanın prognozunu direk olarak etkileyecektir. Bu konuda gerek laboratuvara gerekse laboratuvara örnek gönderen kliniklere önemli sorumluluklar düşmektedir.

Klinik;

Kliniklerde örneği alan ve gönderen personel aşağıda yer alan noktalara dikkat etmeli ve eksiksiz yerine getirmelidir. .

1. Uygun zamanda, uygun koşullarda alınmış, uygun miktardaki kan kùltürünün laboratuvara gönderilmesini sağlamalıdır. Eğer gereken miktardan az örnek alınabilmiş ise gerekçesi belirtilmelidir.
2. Örnek kâğıdına hasta ile ilgili bilgiler özetlenmelidir
 - a. Örneğin alındığı tarih, saat
 - b. Hastanın kayıt numarası veya TC numarası
 - c. Örneği alan kişinin adı, telefon numarası
 - d. Örneğin alındığı yer (sağ kol, sol kol, kateter gibi) belirtilmelidir.
3. Klinik açıdan uzun inkübasyon gerektiren mikroorganizma etken olarak düşünülüyorsa belirtilmelidir.

Laboratuvar:

Laboratuvarda kan kùltürü şişelerini teslim alan ve raporlayan personel aşağıdaki noktalara dikkat etmelidir.

1. Hastanenin ve laboratuvarı uygulama kılavuzları doğrultusunda şişelerin uygun olup olmadığını kontrol ettikten sonra teslim almalıdır.
 - a. İstem uygun yapılıp yapılmadığı kontrol edilmelidir.
 - b. Şişelerin ve istem formunun üzerinde yukarıda belirtilen bilgilerin olup olmadığı kontrol edilmelidir. İstem formu ile şişe üzerindeki bilgiler birbirini tutmalıdır. Probleml bir durum söz konusu ise klinikle temasa geçilmelidir.
 - c. Aksi durumda laboratuvar sorumlusunu da bilgilendirerek kriterler doğrultusunda ret etmelidir. Ret işleminden ilgili kliniği mutlaka bilgilendirmelidir. İsimsiz şişeler mutlaka ret edilir.
 - d. Şişelerin üzeri kan kontaminasyonu ve kirlenme açısından kontrol edilmelidir. Kan ve kan ürünleri ile bulaşan etkenlere karşı tedbirli olunmalıdır. Bu nedenle şişeler mutlaka eldiven ile tutulmalıdır. Böyle bir durum söz konusu ise şişelerin üzerini %10'luk çamaşır suyu solüsyonu ile siliniz.
2. Örneğin koşullara uygun olup olmadığını değerlendirmeli (hacim olarak eksik olan kan kùltürlerini kliniğe bildirmeli ve/veya örneğin tekrar alınmasını sağlamalı)

3. Eğer örneğin alınmasının üzerinden 2 saatten fazla geçmiş ise şişe içeriği üreme saçıısından görsel (baloncuk, sediment oluşumu veya eritrositlerin lize olması, renk indikatörünün değişimi gibi) olarak değerlendirilmelidir.
4. Tek şişelik set gönderilmesi durumunda raporda belirtilmek üzere not alınmalı ve işleme alınmalıdır.
5. Kan kültüründe üremenin olduğu zaman sonucu hızla klinikle paylaşmalı ve rapor edilem kişinin adı, telefon numarası ve raporlama saati not edilmelidir.
6. Laboratuvarda kültür sonucunu klinikle paylaşan kişi, söylediklerini karşı tarafa tekrar ettirerek yanlışlık olup olmadığını kontrol etmelidir.

4. Klinikte Örnek Alımı, Kandan pathojen saptanmasında kritik faktörler

Dilek Arman

Kan kültürü şişelerinin transport ve hastadan kan alındığında ilk yapılacak işlemler

Enfeksiyon etkeninin en kısa zamanda ve doğru olarak saptanması için başta antisepsi-dezenfeksiyon olmak üzere bir takım kurallara uyulması gerekmektedir. Kan birçok mikroorganizmanın kolayca üreyebileceği bir ortamdır. Bu yüzden kan alma sırasında deri antisepsisi çok önemlidir. Antisepsiye dikkat edilmediğinde deriden bulaşabilecek flora bakterileri yanlış değerlendirmeye yok açabilirler.

1-Hastadan kan alındığında hemen şişelerin üzerine hastanın adı soyadı, doğum tarihi, hastane protokol numarası (bazı hastanelerde T.C kimlik numarası veya Sosyal Güvenlik kurumu numarası kullanılabilir) ve örneğin laboratuvara giriş saati yazılmalıdır. Tam otomatik kan kültürü sistemlerinde kanın laboratuvara giriş saati görülebilir.

2-Mümkünse kan kültürü şişelerine de kan alan kişinin de ismi, özel numara veya kodunun yazılması uygun olur.

3-Kanın hangi venden, hangi koldan alındığı kan kültürü şişelerinin üzerine kaydedilmelidir. Spesifik bölgelerden alınan kanların bulunduğu şişelere mutlaka bilgiler yazılmalıdır. Bu bilgilerin kısaltılarak yazılması daha uygundur.

Örneğin kanın periferden alınıp alınmadığı, kateterden alınıp alınmadığı ve kateter lümenlerinin cinsi, rengi yazılmalıdır.

4-Alınan kan miktarı toplam alınması gereken miktardan az ise mutlaka klinisyenin laboratuvarı haberdar etmesi gerekir.

Kan kültürü şişesinin hacminden alınan kan miktarını hesaplamak da mümkün olabilir.Kültür için kan alındıktan sonra zaman, sıcaklık ve uygun şekilde transportun sağlanması önemlidir.

Zamanlama: Kan örnekleri laboratuvara mümkün olduğunca çabuk en geç 2 saat içinde ulaştırılmalı ve hemen gerekli işlemler yapılarak etüve veya otomatik cihazın inkübatörüne yerleştirilmelidir. Kan kültürleri için bir çok yerde kullanılan otomatik cihazlar üremeyi her aşamada tesbit edebilseler bile, dış ortamda 2 saatten fazla bekletilmiş kan kültürlerinde pozitif sonuç saptanmasında geçikme olmaktadır.

Pozitifliğin kolorimetrik olarak saptandığı sistemlerde şişeler cihaza yerleştirilmeden önce renk değişimi olup olmadığı gözle kontrol edilebilir.

Üremeyi farklı şekillerde tesbit eden kan kültürü sistemlerinde ise şişeler gözle incelenir. Ayrıca mikroskopik inceleme ve subkültür yapılarak manuel olarak değerlendirilir.

Sıcaklık: Kültür yapılacak kan kültürü şişeleri buzdolabına veya soğuk bir ortama konulmamalıdır. Şişeler laboratuvara ulaştırılincaya kadar oda ısısında tutulmalıdır. 35-37°C ve üzeri sıcaklıkta bekletilmemelidir.

Transportun güvenli bir şekilde sağlanması : Kan kültürü şişelerine kan konulduktan sonra şişenin kapağının antiseptik madde ile temizlendiğinden emin olunmalıdır.

Kan kültürü şişelerini birbirine çarpmadan taşımak için özel taşıyıcı sistemlerle laboratuvara ulaştırılmalıdır. Yakın mesafelerde bile olsa elde taşınmamalıdır.

Özetle; kan kültürleri Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarlarında incelenen klinik örneklerin en önemlilerinden olup “ **ACİL ÖRNEKLER**” arasındadır. Bu nedenle ki bu tip örneklerin laboratuvar için uygunluğunun belirlenmesinde her zaman red kriterleri katı bir şekilde uygulanmamaktadır. Eğer kan kültürü şişelerinde hastanın adı ve soyadı belirtilmişse, örneklerin transportundaki olumsuzluklar, özellikle geçikmeğe rağmen kabul edilmelidir. Fakat raporda örneğin laboratuvara geç ulaştırıldığı, alınan kanın miktarının yetersiz olduğu,

besiyerlerinin kullanım süresinin geçtiği v.b. durumlar mutlaka belirtilerek kültür sonuçlarının güvenilirliğine etkisi olabileceği bilgisi verilmelidir.

Kan kültürlerinin laboratuvara kabulünde, hasta isminin kan kültürü şişelerinin üzerinde yazılı olmaması örneğin kesinlikle reddedilmesini gerektirir.

Kan kültürü için alınması gerekli kan miktarı, kan besiyeri oranı

Kan kültürü yapılacağına hastadan alınan kan miktarı çok önemlidir. Kan kültürü şişesine alınan kanın miktarı ile etken mikroorganizmanın izolasyonu arasında direk bir ilişki vardır.

Kan kültürü yapılacağına hastanın yaşı ve kilosu önemlidir. Erişkin hastalar ve çocuk hastalarda alınması gereken kan miktarı farklıdır. Çocuklardan özellikle yeni doğanlardan daha az kan alınarak kültür yapılır. Septik yeni doğanlarda bağışıklık sistemi gelişmediğinden kanın mililitresinde genellikle fazla sayıda bakteri bulunur ve bu yüzden kanda bulunan bakterilerin miktarı erişkinlerden fazladır. Çocuk hastalarda kanda bulunan mikroorganizmaların yoğunluğu çoğunlukla >100 CFU/ml dir. Bu nedenle çocuklardan az miktarda 1 ml kadar kan alınması yeterlidir. Hatta yeni doğanlarda 1 ml den az alınan kanla pozitif sonuç elde etmek mümkündür. Çocuklarda optimal kan miktarı 1-5 ml olarak kabul edilir. Çocuk hastalarda yapılan çalışmalarda 2ml kan yerine 6 ml kan alınmasının sonuçlarının aynı olduğu bildirilmiştir.

Çocuk hastalarda kan alınacağına 1-6 yaşındaki çocuklarda (bazı araştırmacılara göre 10 yaşına kadar olan çocuklarda) her yaş için 1 ml kan alınması düşünülebilir. Örneğin 3 yaşındaki bir çocuk için iki farklı bölgeden toplam 3 ml kan alınır. Her bir şişeye 1,5 ml konulur.

Çocuk hastalar için kullanılan pediatrik kan kültürü şişelerinde besiyeri miktarı azaltılmıştır. Çocuğun ağırlığına göre kan kültürleri için gerekli optimal kan miktarı belirlenmiştir(Tablo 1).

Tablo 1. İnfant ve çocuklarda kültür için önerilen kan miktarı (1,6)

Hastanın Ağırlığı		Toplam Kan Hacmi (ml)	Kültür İçin Önerilen Kan Hacmi (ml)		Kültür İçin Toplam Hacim (ml)	Toplam Kan Hacminin %'si
kg	lb		Kültür no. 1	Kültür no. 2		
≤1	≤2.2	50-99	2		2	4

1.1-2	2.2-4.4	100-200	2	2	4	4
2.1-12.7	4.5-27	>200	4	2	6	3
12.8-36.3	28-80	>800	10	10	20	2.5
>36.3	>80	>2,200	20-30	20-30	40-60	1.8-2.7

Erişkin hastalarda gelişen bakteriyemilerde çocuk yaş grubundan farklı olarak kanda bulunan bakteri sayısı azdır. Erişkinlerde kanın ml'inde 1- 10 bakteri bulunur Hatta hastaların birçoğunda <1 cfu/ml' dir.. Erişkin hastaların en ciddi enfeksiyonlarında bile bakteri sayısı çok az olduğundan alınan kan miktarının bakterinin izolasyon oranına etkisi fazladır. Kültür yapılırken fazladan alınan kanın her mililitresi izolasyon şansını artırır. Pratik olarak 10 yaş üzeri ve erişkin hastalardan kan kültürü yapılacağına besiyeri miktarı da dikkate alınarak en az 10-20 ml, ideal olarak 20-30 ml kan alınması gerekir. Ancak 10 yaş üzeri, yaşlı, düşükün hastalarda kan alma sorunu olabileceğinden alınan kan miktarı 20 ml den az olabilir. Çok miktarda alınan kan enfeksiyon etkenini saptama açısından tanı değerini arttırmamaktadır. Bazı kan kültürü şişeleri gerekli hacimden fazla kanın şişeye alınmasını engellemekle birlikte şişelere fazla kan konulduğunda kan hücrelerinin metabolik aktivitelerine bağlı olarak yalancı pozitif sonuç elde edilebilir.

Kan-Besiyeri oranı

Normal insan kanı mikroorganizmaların üremesini inhibe eden maddeler içerir. Bu nedenle kan kültürü yapılacağına alınan hasta kanının belirli bir oranda dilue olması gerekir. Bu oran 1:5 veya 1:10 olmalıdır. Bu dilüsyon oranları kanda bulunan mikroorganizmaların üremesini inaktive eden inhibitörlerin (kompleman, lizozomlar, fagositik hücreler, antikorlar ve antibiyotiklerin) etkisini azaltır veya minimal düzeye indirir. Yarı otomatik sistemlerde kullanılan şişelerde bu oranlar daha düşük 1:2.5 ve 1:5 olabilir. Pediatrik şişelerde bu oran daha düşüktür.

Kan kültürü için gerekli şişe sayısı

Erişkin hastalar için ayrı venlerden alınmış en az 2 set şişe kullanılır. Her sette 2 şişe bulunur. Kan kültürleri için kullanılan şişelerin sayısının artması ile mikroorganizmaların saptanma oranları artmaktadır. Endokarditli hastalarda bir set kan kültürü yapıldığında duyarlılık %80 iken 2 veya 3 kültür yapıldığında duyarlılık %88-%99'a çıkmaktadır. Ancak 24 saatte 4'den fazla kan seti

kullanılması önerilmez. Yapılan çeşitli çalışmalarda 2 kültür seti kullanıldığında duyarlılığın %99 olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle 3'den fazla kültür şişesinin kullanılması etkenin izolasyon oranını arttırmadığından , aynı zamanda kültür maliyetinin yükselmesine ve iatrojenik anemiye de neden olabileceğinden önerilmemektedir (1,2,3,4,8,9). Özellikle endokarditli hastalardan kültür yapılacağına iki kültür arasındaki optimal süre hakkında kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Bu hastalarda önerilen 24 saatte 2-3 kan kültürü seti alınmasıdır. Tüm bakteriyemi kuşkulu hastalarda ayrı venlerden 2 set kültür yapılması gerekir. Erişkin hastalardan kan kültürü yapılacağına bir aerop, bir de anaerop şişe kullanılarak her şişeye 5-10 ml kan alınması gerekir (toplamda 20-30ml). Çocuk hastalardan ağırlığına göre değişmek üzere 1-5 ml kan ve bir set yeterlidir. Yeni doğanlarda ise birkaç damla ve 1 ml'den az kan bile yeterli olmaktadır. Akut endokardit şüphesinde 3 ayrı bölgeden, tercihen antibiyotik verilmeden önce üç set kan kültürü yapılması önerilir. Orijini bilinmeyen ateşte 2-4 set farklı bölgelerden kan alınır. 24-48 saatte negatif ise 2-3 set daha alınması uygun olur. Akut infeksiyon kuşkusu olmayan hastalarda ise 24 saat içinde farklı bölgelerden 2-4 set kan alınması önerilir. Akut febril epizotlarda 2 farklı bölgeden 2 set kan alınması yeterlidir. (3). Anaerop kan kültürü şişesine alınan kan sadece anaerop bakterilerin izolasyonu için değil *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* gibi bazı fakültatif bakterilerin ilk izolasyonda anaerop besiyerlerinde daha iyi ve çabuk üremeleri nedeniyle kullanılmaktadır. Çocuk hastalarda anaerop şişe kullanmak gerekmemektedir. Bazı özel durumlarda yeni doğanlarda erken membran rupture olduğunda anaerop kültür yapılması gerekir. Fungemi düşünüldüğünde, rutin kullanılan aerop şişelerin yanısıra mantarların daha kolay izolasyonunu sağlayan özel besiyerleri tercih edilir.

Kan kültürü yapılacağına istem (istem) formlarının doldurulması

Laboratuvarda bakteriyemi tanısının doğru konulabilmesi için istem (istem) formlarının doğru, bilgilendirici şekilde doldurulması gerekmektedir. Tüm Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarlarına gönderilen örnekler gibi istem (istem) formunda hastanın adı, soyadı yattığı servis, yaşı mutlaka yazılı olmalıdır. Örneğin alındığı saat, hangi bölgeden alındığı, muhtemel klinik tanı, altta yatan hastalığının olup olmadığı laboratuvara bildirilmelidir. Hastanın antibiyotik veya başka bir ilaç kullandığı, protez, shunt, kateter ve sondası bulunup bulunmadığı istem (istem) formunda belirtilmelidir. Kateterli bir hastanın kan kültüründen

koagülaz negatif stafilokok. enterekok ve gram pozitif çomaklar izole edildiğinde anlamlı olabilir. Fakat diğer hastalar için çoğu kez bu bakterilerin hiç bir değeri olmayabilir. İstem (istek) formlarında hastanın yattığı servisin yanısıra tedavisinden sorumlu doktorun ismi, üreme olduğunda bilgi verilebilmesi için iletişim sağlanacak telefon numarası bulunmalıdır.

5. Transportu

Kan kültürü şişelere alınıp laboratuvara gönderilirken bazı kurallara uyulması gerekmektedir;

1. Şişenin üzerine ve istem kağıdına açıklayıcı bilgiler yazılmalıdır (Hastanın adı soyadı, sosyal güvenlik numarası gibi).
2. İstem kağıdında örneği alan kişinin bilgileri yer almalıdır.
3. Örneğin alındığı bölge belirtilmelidir (hangi kol, ven-kateter vs).
4. Şişeye koyulan kan olması gerekenden az ise gerekçeleri belirtilmelidir.
5. Kan kültürü şişelerinin iki saat içinde laboratuvara gönderilmesi gerekmektedir. Bu süreye uyulmaması; şişelerin kan kültür sistemlerine geç girilmesi; üremelerin engellenmesine ya da üremelerin geç tespit edilmesine neden olabilir. Ayrıca uygun bekletilme yöntemleri için üreticinin önerilerine uyunuz.
6. Kan kültürü alınan şişeler asla buzdolabına konulmamalı, dondurulmamalıdır. Buzdolabında bekletme ya da dondurma bazı mikroorganizmaların ölmesine neden olurken; şişelerin dondurulması, şişelerin patlamasına neden olabilir.
7. Taşıma sırasında kültür şişelerinin kırılmayacağı bir ulaşım yöntemi kullanınız. Kullanıcıların pnömatik sistemde kan kültür şişelerini gönderirken kurallara tam uymalarını sağlayınız.

6. **Kan kültürlerinin laboratuvara kabulünde dikkat edilmesi gereken noktalar ve ret kriterleri**

Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarında kan kültürleri en önemli ve "ACİL" örnekler arasında yer alır. Kan normal koşullarda steril bir vücut sıvısıdır. Kanda bakteri bulunması hayatı tehdit eden ciddi bir durumu düşündürür. Bu nedenle çok dikkatli olmalı ve zaman kaybetmeden hızlı davranılmalıdır. En kısa zamanda enfeksiyon etkeninin saptanarak uygun tedavinin başlatılması gerekir.

6.1 Kan kültürlerini red kriterleri

Kanda mikroorganizmaların bulunması çok ciddi bir sorun olabileceğinden, sonuçların güvenilir, sağlıklı olması için örneklerin laboratuvara kabulünde çok dikkatli olunmalı ve uygunsuz olan örneklerin yeniden alınmasının sağlanması gerekmektedir. Bu amaçla aşağıdaki noktalara dikkat edilmelidir:

- a. Üzerinde hasta adı, protokol numarası olmayan örnekler mutlaka red edilmelidir. Yanlış ve eksik etiketli olanlar da aynı şekilde reddedilmelidir.
- b. Kan kültürü şişesi üzerinde yazılı bilgilerle, istek formunda belirtilen bilgiler aynı olmalıdır. Uygunluk göstermeyen örnekler reddedilmelidir.
- c. Ancak örneğin reddedilme bilgisi doktoruna ve/veya hemşireye verilmeli ve bu şekilde zaman kaybetmeden yeni bir örneğin alınması sağlanmalıdır.
- d. Uygun şekilde laboratuvara ulaştırılmamış, 2 saatten çok bekletilmiş ve buzdolabına konmuş örneklerin kabul edilmemesi gerekir.
- e. Kan kültürü şişelerinin laboratuvara ulaştırılması geçikmişse, şişeler üreme açısından manuel, kolorimetrik ve flourometrik olarak incelenir.
- f. Üreme olduğu düşünülürse kan kültürü cihazına koymağa gerek duyulmaz. İşlemler manuel olarak sürdürülür.
- g. Laboratuvara gönderilen kan kültürü şişeleri çatlak olup olmadığı kontrol edilmeli ve böyle bir durum varsa kabul edilmemelidir.
- h. Eğer şişelerde çatlak, kırık bulunmuyor ancak kan bulaşması söz konusu ise şişenin dış yüzeyi antiseptik/dezenfektan madde ile silinmelidir.
- i. Kan örneği tüplere alınmış ise bu tüplerden kültür yapılamaz.
- j. Enjektör ile gönderilen, pıhtılaşmış kanlar da kültür için kullanılamaz.
- k. Böyle durumlarda hastanın hekimi ile hemen iletişim kurularak bilgi verilmeli ve yeniden uygun koşullarda alınmış kan isteğinde bulunulmalıdır.
- l. Laboratuvarda bulunan kan kültürü otomatize sistemine uyumsuz şişelere alınan kültür örnekleri red edilmelidir.

m. Kan kültürü yapılacak şişelerin kullanım tarihleri geçmiş ise bu şişelerin kullanılması uygun değildir. Kullanım süresi geçmiş şişelere alınmış kan örnekleri de iptal edilmelidir. Mecbur kalınırsa işleme alınıp bu durum raporda belirtilmelidir.

n. Kan kültürü şişelerine yeterli miktarda kan alınmamışsa (çok az veya çok fazla) kültür işlemi yapılsa da mutlaka hekim bilgilendirilmeli veya bu durum raporda belirtilmelidir.

o. Önerilen sayıda kan kültürü şişesi kullanılmadığında (önerilen sayı 2 set) kan kültürü işlemleri sürdürülse de bu durum raporda belirtilmelidir.

p. Bir gün içinde (24 saatte) 4 setten fazla kan kültürü gönderildiğinde, fazladan gönderilen örnekler kabul edilmemelidir.

7. Kan kültürlerinin inkübasyonu ve incelenmesi Zeynep Gülay

8. Sonuçların değerlendirilmesi ve raporlama

8.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve raporlama

Kan kültürleri klinik mikrobiyoloji laboratuvarındaki en önemli tanısal kültür işlemlerinden birisidir. Bu sebeple diğer işlemlerden daha yüksek oranda özen gerektirir.

Pozitif kan kültürlerinin yorumlanması çoğunlukla basit olmakla birlikte kimi zaman klinisyen ve klinik mikrobiyoloğu ikileme düşürebilir. Bu durumda doğru yorumlama yapabilmek için çok sayıda laboratuvar verisi hastanın klinik tablosu eşliğinde değerlendirilmelidir. Farklı venlerden alınan kan kültürü setlerinin tümü ya da çoğunluğunda aynı etkenin ürettiği bir pozitiflik paterninin, etkene bakılmaksızın gerçek kan dolaşımı enfeksiyonu varlığını gösterme olasılığı son derece yüksektir. Benzer şekilde, pozitif kan kültürlerinden izole edilen etkenlerin tipi de önemlidir. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* hemen her zaman gerçek kan dolaşımı enfeksiyonunun göstergesidir. Aksine *Corynebacterium* spp, *Propionibacterium* spp. hemen her zaman kontaminasyonu gösterir. Viridans grup streptokoklar, koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) ve enterokoklar ürettiğinde gerçek kan dolaşımı enfeksiyonu göstergesi olarak yorumlanmaları daha zordur. Bazı çalışmalarda

gerçek kan dolaşımı enfeksiyonunu yansıtmaya oranı viridans grup streptokoklarda %38, KNS'lerde %15 ve enterokoklarda %78 olarak bildirilmiştir. Özellikle KNS'ler kan kültürü kontaminantı olması en olası etkenlerden biri olmakla birlikte implantı ve kalıcı kateteri olan hasta popülasyonunda gelişen kan dolaşımı enfeksiyonlarının önemli bir nedeni olarak da karşımıza çıkmaktadır. Bu olguların yorumlanmasında birden fazla kan kültürü setinde pozitiflik söz konusu olduğunda KNS'lerin tür düzeyinde tanımlanması faydalı olabilir. Eğer aynı KNS türü çok sayıda kan kültürü setinden (farklı venlerden alınmış kültürler) izole edildiyse kontaminasyona göre gerçek bakteremiye yansıtmaya olasılığı artar. Bu bilgi olmadan KNS pozitif kan kültürü setlerinin sayısını dikkate almak çok da güvenilir bir yöntem değildir. Bazı araştırmalar ise set sayısının tersine kan kültürü şişe sayısının prediktif değeri bulunduğunu, pozitif şişe sayısı arttıkça hastanın KNS'ye bağlı bakteremisi bulunma olasılığının yüksek olduğunu bildirmiştir. Ancak bu yaklaşımın sistematik değerlendirmesi güvenilir olmadığını kanıtlamıştır.

8.2 Kontaminasyon Olarak Yorumlama Kriterleri

Kan kültürleri ile ilişkili en karmaşık sorunlardan biri işlem esnasında şişeye dahil olan mikroorganizmaların gerçekten kan dolaşımı enfeksiyonu etkeni olup olmadığına karar vermektir. Kontaminantları gerçek patojenlerden ayırt etmek son derece zordur; özellikle her iki durumda da saptanabilen etkenler için bu karmaşa daha ön plandadır.

Kan kültürü kontaminantlarına yönelik işlem ve raporlama, minimum laboratuvar değerlendirmesini sağlamak ve hastaya verilecek gereksiz tedavileri önlemek için standardize edilmelidir. Kontaminasyonun önlenmesi en iyi politikadır. Bu da en etkili olarak; cilt antisepsisi, damara girilmesi ve örneğin kan kültür şişelerine transferi işlemlerinin prosedür ve standartlara uygun şekilde yapılması ile sağlanır. Bunlara rağmen kontaminasyon oranlarını %2'nin altına düşürmenin zor olduğu bildirilmektedir. Ayrıca kontamine kan kültürü ile ilişkili mikroorganizmalar (*Bacillus* spp [*Bacillus anthracis* dışında], *Corynebacterium* spp, *Propionibacterium* spp, KNS, viridans grup streptokoklar, *Aerococcus* spp, *Micrococcus* spp vb) bazı koşullarda ciddi enfeksiyonlara da neden olabilmektedir.

KNS'ler kalıcı aletler ve protezler üzerinde kolonize olabildiği ve biyofilm oluşturabildiği, bunun yanı sıra insan derisinin kalıcı florasında yaygın olarak

bulunduğu için kateter ilişkili septisemi ve yanlış pozitif kan kültürünün başta gelen etkenleridir. Çoğu olguda, yalnızca tek kan kültürü alındığı durumda, şişelerin birinde veya her ikisinde de potansiyel bir kontaminant ürettiğinde ve kıyaslamak için ikinci bir kan kültürü alınmamış olduğunda, bu pozitif kültürün klinik uygunluğunu yorumlamak imkansızdır. Böyle bir durumda laboratuvar tarafından duyarlılık sonucu bildirildiğinde, hekimler yasal ve uygulamaya yönelik gerekçelerle tedavi başlamak zorunda kalabilir.

Bu nedenle düşük virülans potansiyeli olan bir izolatın tek bir kan kültürü setinden (bir veya her iki şişede de) izole edilmesi durumunda yapılacak identifikasyon, fenotipik olarak benzer ancak tıbbi yönden anlamlı mikroorganizmaları güvenilir bir şekilde ekarte edecek düzeyde tutulmalıdır. Örneğin *Streptococcus pneumoniae* ile viridans grup streptokok ayırımına yönelik safrada erime testi yapılması; *S.aureus* ve KNS ayırımı için aglütinasyon veya plazma koagülaz testi; *Bacillus anthracis* ve diğer *Bacillus*'ların ayırımı için hareket testi veya hemoliz varlığının gösterilmesi gibi. Kontaminant olduğu düşünülen izolatlarda rutin olarak duyarlılık testi yapılmasına gerek yoktur; ancak tüm izolatlar aynı hastadan daha sonra alınan kan kültürlerinde aynı mikroorganizmanın üremesi durumunda ileri çalışma yapabilmek üzere saklanmalıdır. Bu durumda her iki izolatın da tam identifikasyonu ve duyarlılık testi yapılmalıdır. Farklı kan kültürlerinden aynı mikroorganizmanın birden çok kez izole edilmesi durumunda başlangıç izolat(lar)ının tam identifikasyonu ve duyarlılık testleri yapılmalıdır. Kontaminant izolatların tüm laboratuvar işlemlerine tabii tutulmasının personel iş yükünü ve kurumsal maliyetleri artırdığı akılda tutulmalıdır. Bu nedenle her laboratuvarın kan kültürü kontaminantlarının değerlendirilmesi için yapılacak işlemleri en aza indirmeye yönelik laboratuvara ve kliniğe dayalı bir algoritması bulunmalıdır. Bunun çeşitli örnekleri uygulanmaktadır.

Richter ve arkadaşları kan kültürü kontaminantlarına yönelik işlemleri en aza indirmek için bir algoritma araştırmış, doğrulamış ve uygulamaya koymuştur. KNS, aerobik ve anaerobik difteroidler, *Micrococcus* spp, *Bacillus* spp ve viridans grup streptokoklar belirli kriterler sözkonusu ise kontaminant olarak kabul edilmiştir. İki veya daha fazla kan kültürü alınmış ve yalnız biri pozitif olduğunda izolat "olası kontaminant" olarak rapor edilerek duyarlılık testi yapılmamış ancak hekim laboratuvarı aradığında duyarlılık testi yapılmıştır.

Yalnızca tek kültür alınmış ve olası kontaminantlardan biri ürediyse konsültan bir hekim hasta dosyasını inceleyerek yayımlanan veriler ışığında izolatın klinik önemine karar vermiştir. İzolatın kontaminant olduğuna karar verildiğinde duyarlılık testi yapılmamıştır. İki veya daha fazla kan kültürü alınmışsa ve 48 saatlik periyot içinde iki kültür pozitifse iki yaklaşımdan biri uygulanmıştır. Eğer izolat viridans grup streptokoksa klinik olarak anlamlı olduğu düşünülerek tüm işlemler uygulanmış, eğer diğer olası kontaminantlardan biri ürediyse konsültan hekim hastayı değerlendirmiş ve laboratuvar işlemleri konsültan hekimin klinik öneme yönelik kararı doğrultusunda ilerletilmiştir.

Konsültan hekimin pozitif kan kültürünün klinik önemine yönelik değerlendirmesinde hastanın öyküsü, lökosit sayısı, vücut ısısı, kan kültürü sayısı, diğer bölgelerden alınan kültürlerin sonuçları, radyolojik bulguları, histopatolojik bulguları ve genel durumu kullanılmıştır. Ayrıca hastanın doktoru ile görüşülmesi de yapılan değerlendirmeye katkı sağlayan bir yaklaşım olarak önerilmiştir.

Weinstein ise mikrobiyoloji laboratuvarında her zaman bir konsültan hekimin bulunamayacağını göz önüne alarak benzer ancak modifiye bir protokol uyguladığını belirtmiştir. Bu protokolda aynı etkenler kontaminant olarak düşünülmüştür. İki veya daha fazla kan kültürü alınmış ve yalnızca biri pozitifse tür identifikasyonu ve duyarlılık testi yapılmamış ve izolat “olası kontaminant” olarak rapor edilmiştir. Eğer tek bir kan kültürü alınmış ve kontaminant olması olası bir etken üremişse aynı yaklaşım uygulanmıştır. İzolat “klinik önemi belirsiz, eğer çalışılmasını istiyorsanız laboratuvarı arayınız” notu ile raporlanmıştır. İki veya daha fazla kan kültüründe 48 saatlik periyotta KNS dışında olası kontaminant ürediyse, tüm laboratuvar işlemlerine devam edilmiştir. Eğer izolatlar aynı ise identifikasyon ve duyarlılık sonuçları rapor edilmiştir. Eğer izolatlar farklı ise duyarlılık testi uygulanmadan sonuç “olası kontaminant” olarak rapor edilmiştir. İki veya daha fazla kan kültüründe KNS ürediğinde tür identifikasyonu ve duyarlılık sonuçları rapor edilmiştir. İzole edilen suşların biyokimyasal profilleri ve antibiyogram sonuçları aynı ise bu suşların aynı olduğu kabul edilmiştir (ancak bunun kanıtlanması yalnızca moleküler tiplendirme ile mümkündür). Bu durumda izolatın klinik olarak anlamlı bir bakteremiye yansıtması olasılığı yüksek kabul edilerek identifikasyon ve duyarlılık sonuçları klinisyene rapor edilmiştir. Ancak

biyokimyasal profil ve antibiyogram sonuçları aynı değilse (iki veya daha fazla fark) izolatların kontaminasyonu yansıtmaya olasılığı çok daha yüksek görülmüştür; bu durumda laboratuvar iki farklı KNS tanımlandığını rapor etmiş ve duyarlılık sonucu vermemiştir. Bu yöntem klinik olarak anlamlı olmakla birlikte bu algoritmanın da sınırlamaları vardır.

8.3 Polimikrobik Bakteriyemi

Pozitif kan kültürlerinin çoğunluğu pasajlandıktan sonra tekrar inkübe edilmediğinden kontaminasyonsuz gerçek polimikrobiyal bakteremi insidansı bilinmemektedir. Polimikrobiyal bakteremi görülme olasılığı hastanın yaşı, altta yatan hastalığı ve uygulanan işlemler gibi faktörlerle ilişkili bulunmuştur (9, 20). Diş çekimi polimikrobik bakteremi için bilinen bir risk faktörüdür (2). Tek başına veya diğer bakteriler varlığında izole edilen, yüksek patojenitesi olan *Pseudomonas aeruginosa*, *S.aureus* veya *E.coli* tam identifikasyon ve duyarlılık testi yapılmasını gerektirir. Potansiyel kontaminant izlenimi veren KNS, *Bacillus* türleri, *Coryneiform* gram pozitif aerobik basiller veya *Propionibacterium acnes* izole edilen bakteriler arasında yer alabilir; bu durumda gerçek patojenin varlığının klinik önemini yorumlamak zordur. Bu tip polimikrobiyal üremelerde, kontaminantlar başlığındaki yaklaşımlar geçerli olur; tüm potansiyel kontaminantlar tanımlanır, bir sonraki kan kültüründe aynı etken izole edilirse, daha sonra birlikte çalışılır.

8.4 İzolatların Sonraki Testler İçin Saklanması

İlgili laboratuvarın protokolüne göre, kanıtlanmış kan dolaşımı enfeksiyonunda etken olması olası izolatlar seri pasajlarla gerektiğinde ek test uygulayabilmek için birkaç gün saklanmalıdır. Ayrıca bu izolatlar derin dondurucuda daha uzun süre saklanarak uygun hastalarda tekrarlayan kan dolaşımı enfeksiyonunun değerlendirilmesinde kullanılabilir (8).

Enfeksiyonu olan hastalarda kan kültürü izolatu son derece değerlidir. Mikroorganizmalar araştırma, klinik, epidemiyolojik, eğitim amaçlı, mikrobiyolojik, tedavi amaçlı ve ticari nedenlerle kullanılabilir. Aktif test döneminde izolatların saklanması, uygun besiyerlerine periyodik bazda seri pasajların yapılmasıyla sağlanır. Farklı mikroorganizmalarda pasajlama sıklığı; intrensik canlılık, fenotipik ve genotipik stabilite farklılıkları nedeniyle değişir. Her iki-üç günde bir pasajlamak mikroorganizmayı en az birkaç pasaj süresince saklamak için uygun bir yöntemdir. Ek test gerektiği durumda

mikroorganizmanın canlandırılabilmesini güvence altına almak üzere kan kültürü izolatlarının kısa ve uzun süre saklanması için laboratuvarlar prosedür geliştirmelidir. Tüm kan kültürü izolatları bilinen kontaminantlar dışında 7-10 gün saklanmalıdır. Bu durum özellikle ilk kan kültürü sonucu ile klinik önemi belirlenemeyen mikroorganizmalar için önem taşır. Bakteri ve mayaları kısa süreli saklama için en basit yaklaşım agar besiyerinde muhafaza etmektir. Bu kültürler oda ısısında saklanabilir; fakat 5-8°C arasında saklamak canlılığın daha uzun sürmesini sağlayabilir. Bu şekilde saklanan kültürler kurumaya eğilimlidir. Fakat çoğu klinik önemi olan bakteri günler ya da haftalarca canlı kalır. Besiyerini su kaybını önlemek amacıyla parafilmle kapatmak orta dönem saklamada da canlılığı koruyabilir. Bu yaklaşımların yeterliliğine yönelik detaylı bir tanımlama bulunmamaktadır ve iç ortam koşullarına bağlı olarak her laboratuvarın saklama başarısı farklı olacaktır (4).

Mümkünse laboratuvarlar ek test gerektiğinde çalışabilmek için patojen kan kültürü izolatlarının hem kısa, hem uzun süreli saklanmasına yönelik prosedür geliştirmelidir. Bu durum tekrarlayan enfeksiyonu olan bir hastadan elde edilen izolatlar, antimikrobiyal tedavi sonrası direnç paterni değişen ve yorum karmaşasına yol açan izolatlar için (örneğin aynı türle endojen enfeksiyonu da olabilen hastalar) özellikle önem taşır. Uzun süreli saklama için ultradüşük ısıda (-70°C) saklamak veya liyofilizasyon önerilir. Steril kriyoprotektif ajanlar (%20 skimmed milk, %10 gliserol, %5DMSO gibi) mikroorganizmaların ultradüşük ısı derecelerinde saklanmasını ve canlı kalmasını destekler. Ancak her birisinin optimal etkisi mikroorganizmaya göre değişir. Uzun süre saklamak için izolatları hazırlamada, taze buyyon kültürünün geç üreme fazından bir miktar santrifüj edilir ve çökelti kriyoprotektif ajanın uygun konsantrasyonda eklendiği yeni taze sıvı besiyerinin birkaç mililitresi ile resüspande edilir. Genellikle kriyoprezervasyon viallerine 0.5ml süspansiyon transfer edilir; bu vialer ultradüşük ısıya dayanıklı, sıkı kapaklı olmalı ve üzerlerinde etiket yapıştırmak için yeterli yüzeyleri bulunmalıdır. Gerektiğinde izolatları elde etmeyi kolaylaştırmak için saklanan her izolatin nereye saklandığı kaydedilmelidir. Gerektiğinde dondurulmuş kültürler 35°C'lik su banyosunda hızla çözülmeli ve ardından mikroorganizmanın uygun pasajı yapılmalıdır (4).

Liyofilizasyon çoğu bakterinin uzun süre saklanması için en güvenilir yöntem olmakla birlikte küf ve bazı bakterilerde intrasellüler sıvının uzaklaştırılması nedeniyle hasar meydana geldiği için uygun yöntem olmayabilir. Liyofilizasyon için özel ekipman, saklama vialleri ve prosedürler gerekir (4). Ek detaylı yöntemlere 7 ve 13 sayılı kaynaklardan ulaşılabilir.

Tüm kan kültürü izolatları ek çalışma gerekebileceği için en az altı ay dondurulmuş stok kültürü olarak muhafaza edilmelidir. Yeterli kaynağı olan merkezlerde depolama alanı uygun olduğu durumda bu süre mümkün olduğunca uzun tutulmalıdır. Olası kontaminantlar benzer bir mikroorganizmanın aynı hastada izole edilmesi durumunda tekrar çalışılabilmesi ve kıyaslanması amacıyla 10 gün-2 hafta saklanmalıdır. Dondurucu alanı kısıtlı ise laboratuvarlar enfeksiyon kontrol hekimi ile görüşerek, diğer kaynaklar için belirlenmiş sürelerden daha uzun süre saklanmak üzere karşılıklı olarak kararlaştırılmış bir izolat listesi hazırlayabilir. Bakterilerin dondurulmuş stok kültürlerini hazırlamak üzere çok sayıda teknik söz konusudur. %10'luk skimmed milk ya da %10 gliserol eklenmiş triptik soy brot dondurucu besiyeri olarak kullanılabilir (13). Steril bir dondurucu vialin içerisine yaklaşık 1ml dondurucu besiyeri eklenmesi kullanışlı bir yöntemdir. Kan kültürü izolatının yeni bir pasajında üreyen koloniler steril bir eküvyonla alınır. Eküvyon dondurucu besiyerine daldırılır; vial kapağının üzerinde kalan kısmı kırılır. Subkültür gerektiğinde vial yalnızca çözdürülür; eküvyon alevden geçirilmiş bir forsepsle alınır; izolasyon için katı besiyerine transfer edilerek pasajlanır. Bakterilerin donmuş süspansiyonlarını saklama amacıyla lineer deliği olan plastik boncuk içeren ticari ürünler de bulunmaktadır. Mikroorganizmanın buyyonda süspansiyonunu hazırladıktan sonra sıvının fazlası uzaklaştırılır; boncuklar dondurulur. Kültürü tekrar canlandırmak için tek boncuk alınır, agar yüzeyinde yuvarlanır veya buyyon içerisine atılarak inkübe edilir (2).

8.5 Sonuçların Rapor Edilmesi

Pozitif kan kültürleri, diğer laboratuvar sonuçlarının yanısıra, hasta ile ilgili tedavi kararı verilirken çok önemli bir etkiye sahiptir. Bu nedenle klinik olarak anlamlı bulunan sonuçlar hasta ile ilgilenen hekime mümkün olduğunca çabuk rapor edilmelidir. Aynı hastadan daha önce alınan idrar veya balgam gibi diğer kültür sonuçlarını gözden geçirmek, hastanın hekimini aramadan önce izolatın

tanımlanmasına yönelik yardımcı ipucu sağlayabilir. Pozitif set sayısı (set=tek bir flebotomiden alınan şişe[ler]), laboratuvara gönderilen toplam set sayısı, kanın toplanmasından pozitifliğe kadar geçen süre ve yaymada görülen mikroorganizmanın tanımı rapor edilmelidir. Hızla yapılan raporlamanın hastanın lehine önemli etkileri olduğu çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir (1, 3, 5, 11).

Mikrobiyolog mümkün olduğunca fazla bilgiyi klinisyene aktarmalıdır. Aynı zamanda yorumlar arasındaki farkların enfeksiyon hastalıkları uzmanı olmayan hekimler tarafından anlaşılabilmesi için açıklamalar yapmalıdır. Örneğin “gram negatif basil” yerine “küçük gram negatif kokobasil” daha yararlı bir ifadedir. “gram pozitif çomak” ifadesi dikkat çekici bulunmayabilirken, “kan kültür şişesinde yüksek oranda gaz oluşturan, sporsuz, gram pozitif vagon şekilli çomaklar” ifadesi klinisyene olası klostridyal sepsis düşündürtebilir. “Kümelere halinde gram pozitif koklar” yerine “stafilokoklara benzer hücresel dizilimi olan gram pozitif koklar” ifadeleri ile raporlama daha anlamlıdır.

Bazı durumlarda tüm sonuçların hekimlere telefonla bildirilmesi gerekmez. Hangi sonuçların telefonla haber verileceği ve pozitif kan kültürü sonuçlarının hangi kişilere bildirileceğine yönelik algoritmalar her sağlık kuruluşuna özel hazırlanmalıdır. Örneğin bazı kurumlarda bir kan kültürü setinden elde edilen tek bir KNS izolatı hastanın hekimine rapor edilmezken, ikinci bir sette KNS izole edildiğinde sonuç rapor edilir ve ileri tetkikler başlatılır. Bunun aksine pediatrik bir hastadan alınan kanda herhangi bir KNS izole edildiğinde laboratuvara tek bir şişe bile gönderilmiş olsa derhal telefonla haber verilir. Pozitif sonuçların hemşireye, ünite sekreterine veya hekime bildirilip bildirilmeyeceği laboratuvarın kurumsal politikası dahilindedir. Bilginin hangi yolla aktarılacağı da kurumdan kuruma değişir. Bazı yoğun klinikler örneğin acil üniteleri, faksla gönderilen sonuçları tercih edebilirler ya da hastane bilgi yönetim sistemini pozitif kan kültürü sonuçları için yakından izleyebilirler.

Klinik olarak anlamlı pozitif kan kültürleri “kritik değer” olarak kabul edilir ve raporlanır. Kritik bir değeri alan kişinin bu bilgiyi yazması ve telefon açan kişiye geri okuması gerekir. Laboratuvarda çalışan kişinin, telefona bakan kişiye “lütfen yazdığınız sonucu bana okur musunuz?” demesi gereklidir. Kaydı alan

kişi kim olursa olsun, mikrobiyolog raporu bildirdiği kişiyi, tekrar okuttuğunu, raporun bildirim tarihini ve zamanını dökümanete etmelidir.

Kayıtlar düzenli aralıklarla, tercihan günlük olarak, kan kültürlerinde üreme olup olmadığı yönünden güncellenmelidir. Bu, laboratuvarın örneği kabul ettiğini de belgelemelidir. “Halihazırda üreme saptanmamıştır” gibi bir rapor da kabul edilebilir. Kan kültüründe mikroorganizma saptandığında bir ön rapor hazırlanır, basılı ya da elektronik olarak laboratuvar bilgi yönetim sistemine kaydedilir. Raporlarda pozitiflik saptanmadan önce şişenin inkübe edildiği toplam gün sayısı, aerobik veya anaerobik gibi şişenin tipi ve örneğin kaynağı (santral venöz kateter veya sağ kol gibi) yer almalıdır. Yeni bilgi saptandığında rapor güncellenmelidir. Belirlenmiş inkübasyon süresi sonunda negatif sonuçlanan raporlar şişenin inkübe edildiği gün sayısını içermelidir. Şişenin cihaza yüklenmesinde gecikme, yetersiz miktardaki örnekler gibi işleme ya da kan örneğiyle ilgili, sonucu etkileyecek yorumlar rapora eklenmelidir. İzolatın olası klinik önemini yorumlamaya yönelik açıklamalar, dikkatle ifade edilmeli ve bu açıklamaların dile getirilme biçimine enfeksiyon hastalıkları uzmanı veya kurumdaki diğer ilgili tıbbi uzmanlarla birlikte karar verilmelidir. Yanlış yorumlanabilmesi nedeniyle raporlarda kontaminant sözcüğünü kullanmaktan kaçınmak önemlidir. Olası kontaminant bir etkeni rapor ederken tercih edilebilecek ifade “bu izolat, kan alma işlemi ile ilişkili cilt florasına ait bir mikroorganizmadır; ileri çalışma gerekiyorsa mikrobiyoloji laboratuvarı ile iletişime geçiniz” şeklinde olabilir.

Tüm laboratuvar raporları gibi kan kültürü rapor biçimi anlaşılır, yorumlanması kolay olmalı ve hekim tüm gerekli bilgiyi kolayca bulabilmelidir. Raporlama biçimine yönelik olarak hekim grupları ile birlikte çalışıp karar vermek en iyi yöntemdir. Laboratuvarın süregelen kalite güvence programı, kullanıcı tarafında hekimin beklentilerinin laboratuvarın vermek istediği bilgilerle örtüştüğünü ve bilginin kaybolmadığı ya da karışmadığını güvence altına alan denetim raporlarını içerir (2).

8.6 Raporlama Aşamaları

Kan kültürü sonuçları, pozitif ya da negatif de olsa, hasta bakımı yönünden kritik öneme sahiptir. Bu nedenle kültür işlemi süresince kan kültürü sonuçlarının raporlanması etkili ve tutarlı olmalıdır. Rapor, hastanın doktorunun istenen bir kan kültürüne yönelik olarak kültürün durumunu ve

uygulanen herhangi bir test sonucunu hızlı ve doğru olarak değerlendirmesine yardımcı olmalıdır. Farklı tipte laboratuvarlar için çok sayıda raporlama mekanizması bulunmakla birlikte genel yaklaşım benzer olmalıdır.

Basılı ve elektronik kan kültürü raporları hastanın doktoruna şu bilgileri sağlamalıdır:

8.7 Örneğin durumu

Hastanın doktorunun bir örneğin durumu hakkında hızlı ve yeterli bir şekilde bilgi sahibi olması önemlidir. Aşağıdaki sorulara verilen yanıtlar özgül bilgi oluşturur:

Kan kültürü istemi yapıldı mı?

Örnek alındı mı?

Örnekte hangi test (aerobik, anaerobik, mikobakteri, mantar vb.) istendi?

Örnek laboratuvar tarafından teslim alındı mı?

Örnek istemi yapılan test için uygun mu?

İstenen test çalışılmaya başlandı mı?

Laboratuvar bilgi sisteminde istenen her kan kültürü için mümkün olan en kısa süre içinde kayıt yapılmalı; örneğin durumuna yönelik yukarıda belirtildiği şekilde herhangi bir değişim olduğunda, mümkün olan en kısa süre içinde kayıtlara yansıtılmalıdır (4).

8.8 Kültür verileri

Her kayıt bir sonuç içermelidir. Kültür verileri ve diğer bilgiler mümkün olduğu kadar hızlı doğrulanmalıdır. Kritik değer sonuçları aşağıdaki gibi mümkün olan en kısa süre içerisinde (60 dakika) uygun kişi ile iletişime geçilerek bildirilmelidir. Kritik olmayan kültür bilgileri doğrulamadan sonraki dört saat içinde kültür kayıtlarına girilmelidir.

8.9 Yazılı ön rapor

Örneğin durumunu raporlamaya yönelik aşağıdaki ifadeler kullanılabilir:

- Kan kültürü istemi var, örnek laboratuvara ulaşmadı.
- Test çalışmada, henüz sonuçlanmadı.
- 24 saatte üreme yok.
- 48 saatte üreme yok.
- Pozitif kan kültürü

Pozitif kan kültürü ilk saptandığı anda Gram boyama sonucunu da içeren yazılı ve sözlü raporlar hastanın doktoruna bildirilmelidir (Bkz.Kritik değer raporu). Yazılı ön raporlar mümkünse:

- Son Gram boya sonucu
- Ön identifikasyon (laboratuvar protokolüne göre; koloni, mikroskopik morfoloji ve ön test sonuçlarına dayanarak)
- Son antimikrobiyal duyarlılık verileri

8.10 Yazılı son rapor

Son kan kültürü sonucu aşağıdakilerden birini içermelidir:

- Test çalışılmadı.
- Üreme yok-laboratuvarın protokolüne göre toplam inkübasyon süresi sonuç raporunda yer almalıdır.
- Pozitif kan kültürü-testin erken aşamasında yazılı bildirim yapılmamış ise, her pozitif kan kültürü sonucu için kritik değer raporlamada belirtildiği şekilde (Bkz Kritik değer raporu) sözel raporlama, sözlü uyarının yanı sıra basılarak rapor edilmelidir.

Son yazılı rapor mümkünse aşağıdakileri içerir:

- Son Gram boyama sonucu
 - Son identifikasyon
 - Son antimikrobiyal duyarlılık verisi
 - Diğer bilgiler-son test sonucunun yorumlanmasını etkileyebilecek herhangi bir ek bilgi yazılı raporda yer almalıdır. Örneğin alınan kan miktarının yetersizliği, uzun transport süresi, kalite güvence bölümünde belirtilen diğer faktörler

8.11 Kritik değer raporu (sözel ve yazılı)

Hasta bakımı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilecek herhangi bir kan kültürü test sonucu laboratuvar politikasına göre rapor edilmelidir. Bu politikalar, hizmet verilen klinisyenlerle konsülte edilerek, sağlık hizmeti standartlarına uyumu sağlayacak biçimde düzenlenmelidir. Alternatif bir iletişim stratejisi kullanılmadığı sürece, kritik değerler aşağıda belirtileceği şekilde sözel olarak bildirilmeli, sonuçların zamanında ve doğru bildirimini güvence altına alacak şekilde valide edilmelidir. Ayrıca kritik değer sonuçlarının klinisyen tarafından alındığı kaydı dökümente edilmelidir.

Kritik değerlerin bildirimine yönelik laboratuvar politikası, bu bilginin hızlı ve doğru bir Şekilde klinisyene aktarılmasını sağlamalıdır. İstemi yapan hekime ulaşılamadığı durumda alternatif ve yetkili bir sağlık personelini tanımlayan bir mekanizma oluŐturulmalıdır.

Pozitif bir kan kültürünü (boya veya kültür) dökümante eden ilk laboratuvar sonucu, her pozitif kan kültürü için kritik bir değer olarak bildirilmelidir. Kritik değer raporları pozitif sonuçlarının doğrulanmasının ardından mümkün olan en kısa sürede yazılmalıdır (60 dakika içinde). İleri aŐamadaki testlerin sonuçlarının, ilk kritik değer bildiriminde yer alan bilgilerden önemli bir farkı olmadıkça tekrar bildirimine gerek olmayabilir.

Diğer bazı durumlarda yapılan raporlamalar da kritik değer olarak bildirilmelidir. Kan kültürü için gönderilen ve kabul edilemeyen örnekler söz konusu olduğunda da bir kritik değer raporu yazılmalı ve yeni bir kan kültürünün alınması gerektiği belirtilmelidir (rneğin kırılan kan kültürü Şişesi).

Önceden yazılmış ilk veya son raporlarda herhangi bir düzeltme gerektiğinde, değişen sonuçların kritik değer olarak yazılmış veya rutin raporlama ile bildirilmiş olduğunu belirten bir kritik değer sonucu yazılmalıdır. Yazılan raporda sonuçların düzeltilmiş bir raporu içerdiği belirtilmeli ve daha önce yazılan rapordaki deęiŐiklięin detaylarını açıklayan ifadeler yer almalıdır.

Laboratuvar kayıtlarında dökümante edilmesi gereken her kritik değer raporu aşağıdakileri içermelidir:

- Raporu yazan kişinin tam ismi
- Hastanın hekimine ulaŐmaya yönelik başarılı ve baŐarısız giriŐimlerin tarih ve saati
- Raporun bildirildiği kişinin tam ismi
- Rapor edilen pozitif değer kritik bir değer olduğu vurgulanarak bildirilmelidir.
- Raporu alan kişinin sonucu geri okuduğunun dökümantasyonu

Laboratuvar protokolüne göre uygulanan yazılı ve/veya elektronik raporlama tüm kritik değer sözel raporlamalarını izlemelidir (4).

9 Kolonize vasküler kateter kaynaklı enfeksiyonları laboratuvar tanısı

Damariçi kateterler; hastalardan kan örneklerinin alınması, sıvı, besin, ilaç, kan ürünü, hemodiyaliz, hemofiltrasyon uygulamaları ve hastaların fizyolojik parametrelerinin izlenmesi amacıyla güncel tıbbi uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır. Takılmaları ve bakımları esnasında antisepsi ilkelerine uyum gösterilmesine rağmen kateterler zaman içinde kommensal veya patojen cilt florası bakterileri ile kolonize olmaktadır. Damar içi kateter ilişkili enfeksiyonlar tüm hastane enfeksiyonlarının %10-20'sini oluşturmakta, yoğun bakım birimlerinde ise bu oran % 35-45'e kadar çıkabilmektedir. Kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları (KİKDE), morbidite ve mortalite oranlarında artışa (% 10-20 kadar), hastanede kalış süresinin uzamasına (7-14 gün kadar) ve hastane masraflarının artmasına neden olmaktadır (16, 18, 19, 22). Yoğun bakım birimlerinde izlenen hastaların neredeyse tümünde en az bir damar içi kateter kullanılmakta, bu kateterlerin yaklaşık yarısını ise santral kateterler oluşturmaktadır (15). Santral kateterler; ucu kalpte veya büyük damarlardan birinin içinde bulunan damar içi kateterlerin ortak adıdır. KİKDE tanısında ve bildiriminde esas alınan “**büyük damar**”lar alttaki listede yer almaktadır (12):

- Aorta
- Pulmoner arter
- Süperior vena kava
- İnternal jugüler venler
- Eksternal iliyak venler
- Ana iliyak venler
- İnteriyör vena kava
- Femoral venler
- Brakiyosefalik venler
- Yenidoğanlarda umbilikal arter ve venler

Alttaki gereçler ise santral kateter olarak kabul edilmez:

- Ekstrakorporeal membran oksijenizasyon (ECMO)
- Femoral arter kateterleri
- İnteraortik balon pompa gereçleri (IABP)
- Santral kan damarlarına veya kalbe takılan “pacemaker” telleri ve diğer lümensiz aletler

“**İntrodüserler**”: Damariçi kateter olarak kabul edilmekle birlikte ucunun bulunduğu yere ve kullanım şekline bağlı olarak santral kateter de olabilirler.

Santral venöz kateter ilişkili bakteremiler günümüzde nozokomiyal enfeksiyonların en önemli nedenleri arasındadır. Damariçi gereçlerin iç ve dış yüzeylerine tutunan mikroorganizmalar (özellikle *Staphylococcus epidermidis* ve diğer koagülaz negatif stafilokoklar) salgıladıkları ekstraselüler matriks (slime) ile oldukça yapışkan bir biyofilm tabakası oluştururlar. Bu tabaka organizmayı konağın bağışık yanıtından korumaktadır. Kolonize kateterden uygulanan İV sıvılar, kateter yüzeyine yerleşmiş bulunan mikroorganizmalar için besleyici rol oynamakta, dahası, enfeksiyonun kan dolaşımına yayılmasına katkıda bulunmaktadır. (3, 6, 9, 14, 17, 18, 22).

Ülkemizde, ulusal hastane enfeksiyonları sürveyans ağı (UHESA) 2010 yılı raporuna göre anestezi ve reanimasyon yoğun bakım birimlerinde gelişen santral venöz kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu Türkiye geneli ağırlıklı ortalaması 5.7/1000 kateter-gün olarak belirlenmiştir (10). Amerika Birleşik Devletlerinde ise aynı döneme ait KİKDE hızları 1.0-1.4 /1000 kateter-gün arasında seyretmiştir (11). Sık görülen ve bildirilen enfeksiyonlardan olmasına rağmen, KİKDE olgularının kesin tanısında hâlâ bazı güçlükler bulunmaktadır. Kateter giriş yerinde pürülan akıntı veya belirgin selülit bulgularının varlığında tanı kolaylaşmakla birlikte olguların %70'inden fazlasında yeni ortaya çıkan ateş dışında herhangi bir lokal bulgu bulunmamaktadır (21).

9.1 Mikrobiyolojik Tanı

KİKDE'nin mikrobiyolojik tanısı için "altın standart" olarak tanımlanmış bir yöntem bulunmamakla birlikte birçok yöntem kullanılmaktadır. Kateter ucunun semikantitatif ve kantitatif kültürü, kateter lümeninden fırça ile alınan örneğin akridin oranj ile boyanması gibi kateterin çıkarılmasını gerekli kılan yöntemlerin yanı sıra; periferik venden ve kateterden eşzamanlı alınan kan kültürlerinde aynı etkenin izole edilmesine, pozitif sinyal süre farkına veya kantitatif kültür yöntemi ile saptanan koloni sayıları arasındaki farka dayalı olarak kateter çekilmeksizin tanıya olanak tanıyan yöntemler bulunmaktadır. En yaygın kullanılan kateter-perifer pozitif sinyal süre farkı yönteminde tanısal duyarlılık değişik çalışmalarda %76 (1) ile %100 arasında bulunmuştur(2, 4, 7)

2005 yılında yayınlanan bir metaanalizde (20) KİKDE tanısında en güvenilir yöntemin eşleştirilmiş kantitatif kan kültürü olduğu bildirilmiştir. Tanısal duyarlılık, özgüllük (her ikisi de >%75) ve negatif prediktif değer (>%99)

açısından, "kateterden alınan kantitatif kan kültürü" ve "akridin oranj lökosit sitospin testi" yöntemlerinin de oldukça güvenilir olduğu belirtilmektedir. Kateter ucunun kantitatif kültürü ile de semikantitatif kültüre göre daha güvenilir sonuçların elde edildiği aynı metaanalizde bildirilmektedir. Bununla birlikte kateter ucu kültürlerine dayalı tanısal yöntemlerde kateterin çıkarılması (veya değiştirilmesi) gerekmektedir. Bu tanısal yöntem kullanılırken mutlaka eşzamanlı periferik venden kan kültürünün alınması ihmal edilmemelidir.

Santral kateter kullanılan hastalarda yeni gelişen ateşin tanısı sırasında kateterlerin %75 ila %85'inin gereksiz olarak çıkarıldığı tahmin edilmektedir(5). Santral venöz kateterlerin gereksiz olarak çıkarılmasını önlemek için kateterin çıkarılmasını gerektirmeyen tanısal yöntemlere daha çok yer verilmelidir. Ayrıca cerrahi olarak yerleştirilen bir kateterin çıkarılması çoğu olguda tedaviyi daha zor hale getirdiğinden KİKDE'nin cilt kontaminasyonu, kateter kolonizasyonu veya kateter dışı bir odaktan kaynaklanan enfeksiyondan ayrımı son derece önemlidir.

9.2 Santral Venöz Kateterler ve Portlar ile İlgili Öneriler (8):

KİKDE düşünülen bir hastadan, en az biri periferik venden diğerleri kateter lümenlerinden veya port haznesinden olmak üzere en az iki set kan kültürü alınmalıdır. Periferik venden ve kateterden alınan kültürler eş zamanlı veya çok kısa zaman aralıkları ile alınmalı, hemokültür şişeleri üzerine kanın alınış yeri ve zamanı mutlaka kaydedilmelidir.

9.3 Kültür sonuçlarının değerlendirilmesi

1. Kateterin korunması düşünülen olgularda;

- ❖ Her iki sette (identifikasyon ve antimikrobiyal duyarlılık özellikleri açısından) aynı mikroorganizma izole edilirse ve başka bir enfeksiyon odağı bulunmuyorsa KİKDE düşünülür.
- ❖ Her iki sette aynı mikroorganizma izole edilir ve kateterden alınan kan kültürleri periferik kan kültürüne kıyasla **≥120 dakika daha erken pozitif** sinyal verirse ve başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE düşünülür. Pozitif sinyal süresi farkının <120 dakika olması KİKDE olasılığını ekarte ettirmez.
- ❖ Lisis/santrifugasyon gibi kantitatif kan kültürüne olanak tanıyan bir yöntem kullanıldığında; her iki kan kültüründe de üreme olması ve kateterden alınan kan kültüründeki koloni sayısının periferden alınan kan kültürüne

kıyasla **en az beş kat daha fazla** olması halinde, başka bir enfeksiyon odağı da yoksa KİKDE düşünülür.

- ❖ Yalnızca kateterden alınan kan kültüründe üreme olursa kesin yorum yapılamaz; KİKDE olabileceği gibi kateter kolonizasyonu veya kültür alınması sırasında meydana gelmiş bir kontaminasyon olabilir.
- ❖ Yalnızca periferik venden alınan kan kültüründe üreme olması halinde; kesin yorum yapılamamakla birlikte, üreyen etken *Staphylococcus aureus* veya *Candida* spp. ise ve başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE düşünülür.
- ❖ Her iki kan kültürü de negatifse KİKDE düşünülmez.

2. Kateterin çıkarılmasına karar verilen olgularda;

Farklı periferik venlerden iki set (20'şer ml) kan kültürü alınmalıdır.

Kolonize/enfekte olduğu düşünülen kateter çıkarılarak distal ucundan aseptik tekniğe dikkat edilerek kesilen 5 cm'lik parça laboratuvara gönderilmeli, Maki'nin semikantitatif yöntemi ile (13) veya vorteksleme ve sonikasyon ile birlikte uygulanan kantitatif yöntemle ekilmelidir.

- ❖ Bir veya daha fazla kan kültüründe üreme olması ve aynı etkenin hem periferik kan hem de kateter ucu kültüründe izole edilmesi halinde KİKDE düşünülür.
- ❖ Bir veya daha fazla kan kültüründe üreme var **ancak** kateter ucu kültüründe üreme yok ise; izole edilen etkenin *Staphylococcus aureus* veya *Candida* spp olması ve başka bir enfeksiyon odağının bulunmaması halinde KİKDE düşünülebilir. KİKDE'nin kesin olarak ortaya konabilmesi için aynı etkenin periferik venden alınan farklı kan kültürlerinde üremesi gerekmektedir.
- ❖ Kan kültüründe üreme olmayıp yalnızca kateter ucu kültüründe anlamlı üreme saptanması halinde; kateter kolonizasyonu düşünülür.
- ❖ Hem kan kültürleri hem de kateter ucu kültürleri negatif kalırsa KİKDE düşünülmez.

Kısa Süreli Periferik Kateterler ile İlgili Öneriler (8):

Hastanın periferik venlerinden iki set kan kültürü alınmalıdır. Kateter aseptik olarak çıkarılmalı ve Maki'nin semikantitatif yöntemi ile kültürü yapılmalıdır. Periferik kateterlerde genellikle enfeksiyona yol açan kolonizasyon kateterin dış yüzeyindedir.

Kültür sonuçlarının değerlendirilmesi:

- ❖ En az bir set kan kültüründe ve kateter ucu kültüründe aynı etkenin üremesi (≥ 15 kob) KİKDE düşündürür.
- ❖ En az bir set kan kültüründe üreme var **ancak** kateter ucu kültüründe üreme yok ise; kesin yorum yapılamaz. Bununla birlikte, üreyen etkenin *Staphylococcus aureus* veya *Candida* spp. olması ve başka bir enfeksiyon odağının bulunmaması halinde KİKDE düşünülür.
- ❖ Kan kültürlerinde üreme yok **ancak** kateter ucu kültüründe üreme varsa, koloni sayısına bakılmaksızın **kateter kolonizasyonu** olarak kabul edilir.
- ❖ Kan kültürlerinde ve kateter ucu kültüründe üreme yoksa KİKDE düşünülmez.

Kateter giriş yeri ve cilt altı tünel hattı enfeksiyonları: Bu rehberin kapsamının dışındadır.

10. Standart besiyerlerinde üremesinde güçlük çekilen mikroorganizmaların saptanmasında konvansiyonel yöntemler

Triptik Soya Agar (TSA), konvansiyonel birçok broth besiyeri arasında en çok kullanılan temel besiyeridir. Beyin-Kalp İnfüzyon (BHI), Columbia, Brucella, thiol, tioglikolat ve suplementli pepton broth besiyerleri de aerob ve anaerob mikroorganizmaları üretmek amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca, çok sayıda Middlebrook formülasyonu da mikobakterilerin üretimini arttırmada kullanılmaktadır (1).

Broth besiyeri ve agarı bir arada içeren “bifazik sistemler” ve “lisis-santrifügasyon” diğer kan kültürü yöntemleri olup lisis santrifügasyon sistemi özellikle üremesi zor olan bakteriler ve mantarların elde edilmesinde tercih edilen bir yöntemdir (1,2).

Konvansiyonel yöntemler için inkübasyon süresi yedi gün olarak önerilmekte olup zor üreyen (yavaş üreyen) bakteriyel patojenler (*Bartonella*,

Legionella, *Brucella*, *Nocardia*) için ve dimorfik mantarlarda daha uzun süreli inkübasyonlara ihtiyaç duyulmaktadır. Otomatize kan kültürü sistemlerinde ise; kolay üreyen patojenler için 24-36 saatlik (2-3 gün) inkübasyon “pozitif sinyal” için yeterli olurken, standart besiyerinde üremesinde güçlük çekilen mikroorganizmalarda beş güne kadar inkübasyon gerekebilmektedir (1).

Standart besiyerinde üremesinde güçlük çekilen mikroorganizmalarda kan kültürü sinyali pozitifken yapılan gram boyamada mikroorganizmaya rastlanamayabilir. Bunun sebebi bu mikroorganizmaların atipik morfolojiye sahip olmaları, çok küçük olmaları ya da bazen *Mycoplasma*'da olduğu gibi Gram boyasıyla boyanamamalarıdır. Bu tür durumlarda akridin oranj boyası bakteriyi gösterebilmektedir (1).

Sürekli (persistan) negatif kan kültürü sonucuyla giden şüpheli bakteriyemi ya da fungemi varlığında zor üreyen mikroorganizmaların üremesini arttıracak alternatif kan kültürü metotları düşünülmelidir. (Tablo.1) (3).

Tablo1. Değişik klinik durum ve sendromlarda kan kültürü zamanlaması için öneriler (3).

Durum veya Sendrom	Öneriler
Şüpheli akut primer bakteriyemi veya fungemi, menenjit, osteomyelit, artrit veya pnömoni	İki veya üç kan kültürü (biri soldan biri sağdan, klinik tanıya destek olabilecek diğer bölgelerden)
Nedeni bilinmeyen ateş (okkült abse, tifoid ateş, bruselloz, ve nedeni bilinmeyen diğer ateşli sendromlar)	İki veya üç kan kültürü (biri soldan biri sağdan, klinik tanıya destek olabilecek diğer bölgelerden). Eğer bunlar negatif ise 24-48 saat sonra aynı şekilde iki ve üç kan kültürü örneği alınmalı.
Sürekli Negatif kan kültürü ile karakterize şüpheli bakteriyemi veya fungemi	Alternatif kan kültürü metodları önerilmektedir (Mikobakteri, mantarlar ve zor üreyen bakteriler)

Kanda geçici olarak bulunan ya da endokardit de dahil olmak üzere intravasküler enfeksiyona sebep olan bazı mikroorganizmalar standart rutin veya otomatize kan kültür protokolleriyle üretilmemektedir. Bu mikroorganizmalar sık izole edilmese de ciddi enfeksiyona sebep olabilmektedirler (1,3).

Coxiella, *Chlamydia*, *Rickettsia* ve *Tropheryma* spp. gibi bazı mikroorganizmalar yapay besiyerinde üremediklerinden serolojik testler veya moleküler çoğaltma yöntemleri kullanılarak tanıya gidilmektedir. Örneğin; *Chlamydia psittaci* endokarditinin tanısında seroloji neredeyse tek tanı yöntemi olmasına rağmen *Bartonella*'ya karşı gelişen antikorlar sorun oluşturmaktadır (3).

Kan numunesinde, moleküler çoğaltma testlerinde (nucleic acide ampification test, NAAT) EDTA'lı tüp, plazma hazırlama tüpü veya asit-sitrat tüplerine ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışacak olan örnek -70°C'de saklanmalı ve mikrobiyoloji laboratuvarına taşınırken kuru buzda gönderilmelidir. Kan gönderilmeden önce çalışacak olan laboratuvar ile temasa geçip hangi tüpte ve hangi sıcaklıkta gönderileceği öğrenilmelidir (3).

Cryptococcus neoformans, *Legionella* türleri, bazı *Helicobacter* türleri, ve küf mantarları, kan kültürü besiyerinde canlılığını devam ettirebilir fakat üreme indikatörü olan metabolik ürün üretecek kadar çoğalamaz ya da sıvı besiyerinde gözle seçilemeyecek kadar az çoğalır (3).

Üremesinde güçlük çekilen mikroorganizmaları alfabetik sıraya göre tek tek ayrıntılı olarak ele almak gerekirse;

10.1 Abiotrophia türleri, besin yönünden eksik streptokoklar ve Granulicatella türleri:

Kan kültürü besiyerlerinde üremeleri iyidir ve şişelerde pozitif sinyale neden olurlar hatta genelde inkübasyonun ikinci gününde saptanabilirler. Gram boyama ile kolayca görülür fakat çikolata agarda yaşayabilmelerine rağmen kanlı agar besiyerinde üreyemezler. Bu türlerin izolasyonu için; piridoksal veya sistein varlığına bağımlı olduklarından *Staphylococcus aureus* ile çarpaz çizgili (cross-streak) kanlı agara eş zamanlı ekim (kokültivasyon) sonucunda uydu kolonileri gözlemlenir (1,3).

Her yeni çikolata agar besiyeri lotu, besinsel olarak varyant bir streptokokla; kan kültüründen yapılan kültürlerin (pasajların/subkültürlerin) bu ajanı ortaya çıkartıp çıkartmadığından emin olmak için test edilmelidir. Böylesi bir kalite kontrol programı uygulanabilir değilse başlangıç pasajlarında üremesinde güçlük çekilmiş olan gram pozitif koklar için kanlı agarda *S. aureus* çizgi ekimi kullanılmalıdır (3).

10.2 Bartonella:

Bartonella bakteriyemisinin persistan ve rekürren olması nedeniyle oluşan güçlü antikor cevabı antikor testini tanı için en güvenilir yöntem kılmaktadır. Nükleik asit çoğaltma yöntemleri de çok duyarlıdır. Kan kültürü için, lizis santrifügasyon kullanılarak sediment Columbia agar bazlı kan, çikolata veya BCYE (Buffered charcoal yeast extract) agar plaklarına yerleştirilerek 35°C, %5 to 7% CO₂'li nemli ortamda 14 ile 21 gün inkübasyon ile denenebilir (1,3). Pozitif sinyal veren BacT/ALERT kan kültürü şişelerinden alınan "7,5 ml sıvı besiyeri (broth)" lizis santrifügasyon tüplerine aktarılıp sedimenti yukarıda anlatıldığı şekilde işlemde geçirildiğinde *Bartonella* türlerinin izole edilebilmektedir (3).

10.3 *Brucella*:

Otomatize sisteme bağlı olarak *Brucella* bakterisi standart ya da biraz uzamış inkübasyon protokolleriyle izole edilebilmektedir. Otomatize sistemler tarafından tüm izolatlar yedi gün içinde saptanabilmektedir (3). Bazı çalışmalarda BACTEC veya BacT/ALERT sistemlerinin 4 günde %100 pozitiflik verdiği bildirilmiştir (4,5). BACTEC sistemi tarafından tespit edilen bazı pozitifliklerin Isolator sisteminde kaçırılacağı yönünde çalışmalar mevcuttur (5).

İnkübasyonun 10 güne uzatılması *Brucella*'nın saptanmasında %100 duyarlılık sağlamaktadır. Fakat yeterli kan volümü ile 5 gün içinde de üremesi beklenir (3).

Laboratuvar kaynaklı enfeksiyonlar içinde en yaygın sebep olması ve potansiyel bir biyoterör ajanı olması nedeniyle bu mikroorganizmayı biyogüvenlik düzeyi 2 şartlarında biyogüvenlik kabinlerinde çalışmak gerekir (3).

Plaklar bantlanmalı ve ön testler *Brucella*'yı düşündürür düşündürmez (küçük gram negatif kokobasil, hızlı üreaz pozitifliği, oksidaz ve nitrat pozitifliği) doğrulama yapılmalıdır. *Brucella*'nın broth'tan ilk boyamada Gram-pozitif ya da Gram-değişken görünmesi çok nadir olup bu nedenle bütün küçük gram değişken kokobasiller aksi ispat edilinceye kadar biyoterör ajanı olarak kabul edilmeli ve buna göre işlemde geçirilmelidir (3).

10.4 *Campylobacter*:

Helicobacter ile birlikte *Campylobacter*, küçük, ince ve kıvrık çomaklardır. Pozitif işaretli şişelerden görebilmek için akridin oranj boyasının kullanımını gerektirebilmektedir. *Campylobacter*'in *C. jejuni*, *C. lari*, ve *C. fetus* cinsleri dahil

pek çok türü zaman zaman kandan izole edilmektedir ve genellikle 5 günlük protokolda çoğalırlar. Pasajlar, Columbia kanlı-agar bazlı plaklarda, özgül Campy besiyerinde (mümkünse antibiyotiksiz) inkübe edilmelidir. Inkübasyon mikroaerofilik bir ortamda 35-37°C'de 3 güne kadar olmalıdır (3).

10.5 *Francisella tularensis*:

Standart kan kültürü ticari sistemlerinde kandan üretilebilecek kadar çoğalabilmektedir. Sistein eklenmesi optimal üremeyi sağlaması açısından önemlidir fakat çoğu zaman gerekli değildir. Çok küçük, pleomorfik özelliği nedeniyle kan kültürü şişelerinden yapılan Gram boyama incelemesinde kolaylıkla atlanabilir. Standart koyun kanlı agara yapılan ilk pasajında üreyebilse de akabinde yapılan pasajlarda üremesi zorlaşır. Bazı izolatlar başlangıçta sadece çikolata agar plaklarında ürer. Potansiyel bir biyoterör ajanı olmasının yanı sıra biyogüvenlik düzeyi-3 gerektiren mikroorganizma olması nedeniyle de rutin klinik laboratuvarlarda en az düzeyde çalışılması gerekir. Örneğin bir izolat çok ince, soluk gram negatif boyanmış ya da gram değişken kokobasil ise tüm plaklar hemen kapatılıp işaretlenerek tüm çalışmalar güvenlik kabinlerinde sürdürülmelidir (1,3). İzolat katalaz negatif ya da zayıf pozitif, üreaz negatif, oksidaz negatif ve nitrat negatif ise *Francisella*'nın dışlanması için ileri düzey tanı laboratuvarlarına ihtiyaç duyulmaktadır (1). Bu amaçla örnekler Ulusal Referans Laboratuvarına gönderilebilir.

10.6 HACEK grubu:

HACEK grubu; *Haemophilus* spp., *Aggregatibacter* (önceki adıyla *Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* ve *Kingella* spp. isimli mikroorganizmaların baş harflerinden oluşmaktadır. Enfektif endokardit tanısında tek başına kan kültüründe bu gruptan bir bakterinin üremesi tanıda kullanılan major kriterlerdendir (6).

Enfektif endokardite ek olarak bakteriyemi ile seyreden çeşitli enfeksiyonlara da sebep olabilmektedirler. Enfeksiyon odağından bağımsız olarak ilk bir hafta içinde mikroorganizmalar kan kültüründe ürerler. HACEK grubu endokarditi şüphesinde kültürler 5 günden sonra hala negatifse, daha uzun bir inkübasyon süresi veya terminal pasajlar gerekli olabilir (1).

10.7 *Helicobacter*:

Helicobacter cinaedi ve diğer türler (örneğin; *H. westmeadii*) genellikle immün düşkün hastaların kanından 7 günlük inkübasyondan sonra elde

edilmiştir. *Helicobacter*, Gram boyama ile görülmediğinden akridin oranj boyasına gerek duyulmaktadır (3). Ayrıca 7 günlük inkübasyonun sonunda zenginleştirilmiş kanlı agara terminal pasajlar ve sonrasında hidrojen zengin mikroaerobik ortam inkübasyonu bakteri eldesi için optimal koşulları sağlayacaktır (1).

10.8 Legionella:

Toplum kökenli pnömonilerin yaygın sebebi olmakla birlikte pnömoniye sekonder *Legionella* bakteriyemisi genelde görülmez (1). Bakteriyemileri sistemik hastalık sırasında meydana gelir (3). Renal transplantasyon ve prostetik kapak endokarditini takiben bakteriyemileri bildirilmiştir (1).

Legionellalar her ne kadar ticari kan kültürü sıvı besiyerinde (broth) yaşayabilse de çoğalamazlar (3). Saptanması için 5 günlük kan kültürü inkübasyonunun ardından artık ticari olarak bulunmayan özelleşmiş BCYE (Buffered charcoal yeast extract) sıvı besiyeri (broth) veya lizis santrifügasyon ve BCYE üzerine kaplayacak şekilde ekim ve akabinde nemli ortamda 5 güne kadar inkübasyon gereklidir (1,3).

10.9 Leptospira:

Leptospira için; kan kültürleri hastalığın ilk haftasında alınmalıdır çünkü 7. günden sonra bakteriyemi görülmemektedir. Bu mikroorganizma 35°C'de yaşamadığından, kültürler 30 °C'de tutulmalı ve inkübe edilmelidir. İdeal olarak iki damla kan hasta başında 10 ml.lik Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris broth veya PLM-5 broth (Intergen Co., Purchase, N.Y.) gibi yarıkatı oleik asit albumin besiyerine ekilmelidir (3). Bu besiyerleri veya diğerlerinin bovin serum albumin ve Tween 80 içermesi önerilmektedir (7). On üç haftaya kadar 28 - 30°C'de inkübe edilen besiyeri haftalık olarak kıvrımlı spiroketlerin varlığı açısından karanlık alan mikroskopisi ile incelenmelidir (3).

Başka bir seçenek olarak kan, heparinli, oksalatlı veya sitratlı tüplere alınıp oda ısısında referans bir laboratuvar için kültür için saklanabilir (3).

10.10 Mantarlar:

Sistemik kriptokokal hastalığının çoğu kez tanısı kriptokokal antijen testiyle (aglutinasyon veya ELISA) hızlı şekilde konsa da otomatize sistemlerde ya da kan kültürü sıvı besiyerlerinden (broth) standart 5 ya da 7 günlük inkübasyondan sonra mantar besiyerine kör pasajlar (subkültürler) yapılarak mikroorganizma elde edilebilir (3).

Malassezia furfur için pasajlanan mantar besiyeri plağına (Beyin Kalp İnfuzyon agar, Sabouraud dekstroz veya potato flake agar) çok ince bir tabaka steril zeytinyağı ilavesi gerekirken diğer mantarlar ticari kan kültürü sıvı besiyerlerinde iyi çoğalır ve özel bir uygulama gerektirmezler. Lipid emülsiyon tedavisi alan süt çocukları ve yoğun bakım servisindeki yenidoğanlar *M. furfur* sepsisi açısından en riskli gruplardır (3).

Standart kan kültürü sıvı besiyerleri içeriğindeki; besinler, kısmi oksijen basıncı ve pH bakterilere göre optimize edildiğinden mantarlar nadiren izole edilebilirler (3).

Fusarium veya *Histoplasma* gibi küf mantarlarından şüphelenildiği takdirde özel fungal sıvı besiyeri ya da MYCO/F Lytic medium (BACTEC), BacT/ALERT MB veya Isolator lizis santrifügasyon sistemlerinin kullanılması önerilmektedir (8).

Beyin Kalp İnfuzyon agar, Sabouraud glukoz ve Beyin Kalp İnfuzyon agar veya potato dextrose agar Kriptokok ve küf mantarlarının elde edilmesinde kullanılan en uygun besiyerleridir (3).

10.11 Mycobacterium:

Çoğu kez mikobakteriyel kan kültürü AIDS'li hastalarda *Mycobacterium avium-M. intracellulare* kompleksinin disseminasyonunun saptanması için istenmektedir. Gelişmiş ülkelerde *Mycobacterium tuberculosis* nedenli mikobakteriyemi daha az oranda görülmektedir (1,3).

Ticari sistemlerde özgül sıvı besiyerleri bulunur. BACTEC cihazı için olan MYCO/F Lytic besiyerinin diğer besiyerlerinden daha iyi performans gösterdiği ve bir Isolator tüple kombinasyonunun iyi çalıştığı bildirilmiştir (9). Bir çalışmada MYCO/F Lytic ve BacT/ALERT MB besiyerlerinin Mikobakterilerin elde edilmesinde eşit başarıda oldukları fakat Isolator tüpe kıyasla pozitifliği daha hızlı sürede ortaya koydukları tespit edilmiştir (10).

Ticari mikobakteriyel kan kültürlerinde üretici önerileri izlenmelidir. BacT/ALERT MB sistemi gibi bazı durumlarda kan hasta başında direkt şişeye inoküle edilir ve inkübasyondan önce özgül zenginleştirme sıvısı laboratuvarında eklenir (3).

Hücre içi bakterileri ortaya çıkarmak için kan antikoagülanlı (heparinli) tüpe veya lizis santrifügasyon tüpüne alınıp (EDTA veya asit-sitrat tüpü

olmayacak) direkt plak besiyerine (7H-11) ve otomatize araç sıvibesiyerlerine (broth) inokülasyon için laboratuvara gönderilebilir (1,3).

Isolatör tüplerine alınan kan BACTEC 12B şişelerine inoküle edilirse, bakteriyel pelletten sadece 0,2 ml kullanılmalıdır, çünkü Isolatördeki bir bileşen inhibitör olarak bulunmuştur. Diğer sistemler kullanılmadan önce Isolatörün inhibitör etkisi kontrol edilmelidir (3).

Kan Isolatör tüplerde alınıp, işlenip mikobakteriyel besiyerine doğrudan koloni sayımı için ekilebilir (3).

Kandan mikobakteri eldesinde Isolatör etkin bulunmuştur. AIDS'li hastalarda *M. avium-M. intracellulare* kompleksi günümüzde nadiren görülmektedir, tedavi başarısı Pediatrik 1.5 ml Isolatörden Middlebrook 7H11 or 7H12 agar plaklarına ekim ile takip edilebilir (3).

10.12 Mycoplasma:

Mycoplasma hominis bir postpartum sepsis sebebi olabilir. Kan kültürlerinde zaman zaman elde edilir ve pasajları standart kanlı agar plaklarına yapılabilir. *M. pneumoniae* septisemiye de sebep olabilmektedir (3).

Standart kan kültürü sistemleri bu tür hücre duvarı olmayan *M. pneumoniae* gibi mikroorganizmaların üremesini nadiren sağlar. Fakat akridin oranj boyası ile bu mikroorganizmalar pozitif şişelerde görülebilir (3).

Jelatin veya arjinin eklenmesi elde edilme olasılığını arttırmaktadır (1,3). Shepard's A-7 veya pH 4.5'te SP4 bifazik besiyeri gibi özgül *Mycoplasma* besiyerlerine pasaj ve 7 güne kadar %5 CO₂'li ortam veya en iyisi anaerob ortamda 35°C'de inkübasyon şarttır. Zaman zaman Columbia CNA agar plaklarında koloniler gelişebilmektedir (1,3).

Klinisyenler izolasyonu güç olan bu cins mikroorganizmaların kültür pozitifliğinin hastanın tedavisini nasıl değiştireceğini laboratuvara istem sırasında belirtmelidir.

11. Örneğin laboratuvarında işleme alınması sırasında dikkat edilmesi gereken biyogüvenlik uygulamaları Ahmet Başustaoğlu-Mustafa Güney

12. Kalite Güvence

Kan kültürü uygulamalarında kalite güvencesi yalnızca çalışma esnasındaki kalite kontrol uygulamalarını değil, aynı zamanda çalışma öncesindeki ve sonrasında sonuçların rapor edilme süreçlerini de kapsayan tüm süreçlerin gözden geçirilmesi ve izlenmesi sonucunda sağlanabilmektedir. Kalite güvencesini sağlamada kullanılan bazı göstergeler aşağıdaki tablo 1'de sunulmaktadır.

Tablo 1: Kan kültüründe kullanılan çeşitli kalite güvence göstergeleri

<i>Takip edilen göstergeler</i>	<i>Takip süresi</i>
Kan kültürü kontaminasyon oranı	Aylık ve gereken durumlarda
Önerilen kan miktarının altında veya üstünde inoküle edilmiş kan kültürü şişelerinin oranı	Yıllık
Tek kan kültürü oranı	Başlangıçta aylık, sorun yoksa daha uzun aralıklarla
Çok sayıda kan kültürü	Sürekli
Kan kültürü pozitiflik yüzdesi	Aylık (hasta tipi ve servise göre ayrıntılı)
1000 hasta günü başına düşen kan kültür istem oranı	Yıllık
Direkt bakı ve kültür sonuçları arasındaki uyum	Yıllık (her teknisyen için)
Kritik sonuç bildirme süresi (sonuç çıktıktan kliniğe bildirilinceye kadar geçen süre)	Yıllık veya daha sık olabilir
Direkt antibiyogram sonucunun identifikasyon sonrası uygulanan antibiyogramla karşılaştırılması	Sürekli
Sonuç raporları, faturaların kontrolü	Üç ayda bir

1.Çalışma Öncesi İşlemler

Kan kültürü incelemesi öncesindeki süreçte yapılan işlemler şu şekilde sıralanabilir: Hasta değerlendirmesi, kan kültürü istemi ve girişi, kan örneğinin alınması, laboratuvara taşınması ve gelen örneğin kaydı.

Bu bileşenlerin her biri başarılı bir sonuç için önem taşımaktadır:

1.1 Hasta Değerlendirmesi

Kan kültürü incelemesi, seçili hasta grupları için tedavi ve/veya prognozu etkileyen kritik bilgiyi verebilmektedir. Bu nedenle, her kurumun kan kültürü için uygun hastayı belirlemeye yönelik bir yönerge hazırlaması zorunludur. Yönergelerin aynı zamanda kan kültürü incelemesinin çok da önerilmediği düşük öncelikli, klinik senaryoları da tanımlamış olmasında yarar vardır. Düşük riskli hastalarda yalancı pozitif kan kültürü sonuçları ile hem hasta sonucunda hem de kurumun hasta bakım masrafında olumsuz yönde bir etkilenme olacağı unutulmamalıdır.

Kalite güvence göstergesi örneği: Tanı amacıyla ilk istemi yapılan kan kültürleri içerisinde bakteriyel pnömoni ön tanısıyla başvuran hastalara ait olanların oranı .

1.2 Kan Kültürü İstemi

Laboratuvarlar, kliniklerde kan kültürlerinin en uygun şekilde kullanımını sağlamak için klinisyenle iş birliği içerisinde çalışmalıdır.

Kan kültürü alımıyla ilgili protokoller laboratuvar tarafından anlaşılır bir şekilde hazırlanmalı ve tüm kullanıcılara (hekim, hemşire, kan alan diğer görevliler) açık olmalıdır. Kan kültürü inceleme talepleri kurum tarafından ilgili yönetmeliklere uygun şekilde oluşturulup standardize edilmiş basılı veya elektronik ortamdaki formlar üzerinden yapılır. İstem formlarının anlaşılır ve kullanımı kolay olması laboratuvarın sorumluluğundadır. Tüm önemli bilgiler talep formunda okunaklı şekilde belirtilmelidir. Bu bilgilere hasta kimlik bilgileri, talepte bulunan sağlık çalışanının kimlik bilgisi, örnek tipi ve detaylar, istenen spesifik inceleme, hasta tanısı ve ilgili klinik bilgiler de dahildir.

Kalite güvence göstergesi örneği 1: Önerilen sayıda kan kültürü örneğine sahip hastaların oranı (Her atak için 2 veya 3 kan kültürü seti alınması önerilir).

Kan kültür istem oranlarının takibi için çeşitli yöntemler önerilmektedir. Bunlardan ilki *kültür pozitiflik oranlarının takibi*dir. Bu oranlar birincil veya üçüncü basamak sağlık hizmeti sunan hastanelerde değişmekle birlikte genel olarak belirlenmiş ortalama oranlar mevcuttur. Bu oranlarda % 5 azalma veya % 15 artma öncelikle hekim tarafından yapılan örnek istemlerinde bir sorun olabileceğini akla getirmelidir.

Uygun istemi takipte diğer bir yol *1000 hasta günü başına düşen kan kültür istem oranı*dır. Laboratuvar yönetimi ile ilişkili olarak düzenlenen uluslararası bir forumda 103-188 arasındaki istem sayısı kabul edilebilir bulunmuştur.

Kalite güvence göstergesi örneği 2: Önerilenden fazla kan kültürüne sahip hastaların oranı (İlk hasta değerlendirmesi için 2 veya 3 set kan kültürü toplanması önerilir).

1.3 Örnek alımı

Genellikle kan kültürü incelemesi için kan alımında üst ekstremitte veni önerilmektedir. CLSI'nin H3 dökümanı kan kültürü için örnek alımı ile ilgili prosedürlerin hazırlanması için rehberlik eder. Arteriyel veya alt ekstremitte veninden örnek alımı hastaların zarar görmelerine yol açabileceği ve kültür kontaminasyonu riskini arttırabileceğinden önerilmemektedir.

Örnek alımı ile ilgili ayrıntılı hazırlanmış kılavuzlar, kan alımı sırasında oluşabilecek medikal sorunları (Kan örneği veya hastaya ait yetersiz ya da hatalı tanımlama/etiketleme, örnek alımında ya da zamanlamasında hatalar, hematoma oluşumu, hastane kaynaklı anemi, ve hemokonsantrasyon) en aza indirgeyecektir. Kan kültürü alacak sağlık çalışanına eğitim verilmesi ve yetkinlik programının uygulanması önemlidir.

Tüm kan kültürü örnekleri için aşağıdaki bilgiler sağlanmak zorundadır:

- Hastanın adı, soyadı
- Hastaya ait bir protokol numarası
- Örnek alım tarih ve saati
- Hastaya ait klinik bilgi (tanı, ilgili servis, antibiyotik kullanımı vb.)
- Örneği alan personelin kimlik bilgileri

Mümkün oldukça antimikrobiyal ajanlar kullanılmadan önce kan alınmalıdır.

Kalite güvence göstergesi örneği 1: Kan kültürü kontaminasyon oranı (Kan kültürü kontaminasyonu oranı %3 ün altında olmalıdır).

Kan kültürü kontaminasyonu; bir kültür örneğinde koagulaz negatif stafilocok, korineform gram pozitif basiller ya da *Micrococcus*, *Propionibacterium* veya *Bacillus* türleri (anthracis dışı) ile üreme olmasıdır. Özellikle pediyatrik onkoloji ve acil servislerde kontaminasyon oranları daha yüksek olmaktadır. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları servislerinde kontaminasyon takibi sıklıkla tek kan kültürü göndermeleri nedeni ile yeterince iyi olmamaktadır. Bu nedenle koagulaz negatif stafilocok üremelerini kontaminasyondan ayırmak için C-reaktif protein (CRP) bakılması da önerilmektedir.

Kalite güvence göstergesi örneği 2: Önerilen kan miktarının altında veya üstünde inoküle edilmiş kan kültürü şişelerinin oranı (örn. yetişkinler için her kan kültürü şişesine 10 mL kan inoküle edilmelidir).

Şişelerin örnek hacmi olarak yeterliliğini belirlemek için 2 yaygın yöntem vardır: bunlar şişelerin tartılması (1ml kan yaklaşık 1g'dır) ve miktar standardı içeren görsel karşılaştırmadır. Şişelerin tartılması daha doğru sonuç verir, fakat görsel karşılaştırma çok daha hızlı yapılabilmektedir.

Kültür şişelerine yeterli miktarda kan konulup konulmadığı en azından yılda bir kez değerlendirilmeli, yetersiz ya da fazla kan miktarına bağlı olarak yalancı negatif sonuçlar alınabileceği unutulmamalıdır. Önerilen kan hacmi üzerinden 2 ml aşağısı ya da yukarısında kan konulmuş kültürler belirlenerek düzeltici-önleyici faaliyetler planlanmalı ve kanı alan gruplara bu konuda eğitim verilmelidir.

Kalite güvence göstergesi örneği 3: Tek şişe olarak gönderilmiş kan kültürlerinin oranı

Kalite güvence göstergesi örneği 4: Her hangi bir nedenle reddedilmiş kan kültürlerinin oranı

1.4 Örnek Taşınması

Kan kültürleri için alınan örnekler laboratuvara mümkün oldukça hızlı taşınmalıdır. Kan örneklerinin toplama ve taşınmasının 2 saat içinde yapılması önerilir.

Kalite güvence göstergesi örneği: Taşıma süresi uzamış kan kültürlerinin oranı (>2 saat)

1.5 Örneklerin kayıt altına alınması ve İşlenmesi

Kan kültürü incelemesi için alınan örnekler laboratuvara geldiğinde kabul için değerlendirilmeli (örnek miktarı, taşınma süresi ve koşulu, barkodlama vb. göz önünde bulundurularak), laboratuvar kayıtlarına geçirilmeli ve kan kültürü inceleme alanına transfer edilmelidir. Örnek inkübasyonu ve işlenmesi uluslararası/ulusal standartlara göre hazırlanmış test rehberleri doğrultusunda uygulanır.

Laboratuvara girişinde reddedilen kan kültürü örnekleri, istemi yapan ilgili klinisyene veya laboratuvarın politikasına bağlı olarak hastanın servisine bildirilmelidir.

Aşağıdaki kriterlere sahip kan kültürü örnekleri ise laboratuvar tarafından uygun olmadığı belirtilmek koşuluyla işleme alınabilir:

- Yetersiz hacimde örnek alınmış şişeler/tüpler
- Yetersiz sayıda kan kültür şişesi/tüpü
- Tek kan kültürü

- Sadece anaerobik veya aerobik şişeye inoküle edilmiş kan örnekleri
Önerilenden fazla kan kültürü gönderildiğinde örnekler işlemlenmeli, fakat laboratuvar bunun anemi riskini artıracaklarını ve büyük ihtimalle kontaminantların da üreyeceğini bildirmelidir.

Kalite güvence göstergesi örneği: Reddedilmiş kan kültürü örnekleri hakkındaki bildirim oranları

2. Çalışma Aşamasındaki İşlemler

Kan kültürünün inceleme aşaması aşağıdaki bileşenleri içermektedir:

- Mikroorganizmaların üretilmesi
- İzolatların identifikasyonu
- Uygun izolatlara duyarlılık testi uygulanması
- Test sonuçlarının güvenilirliğinin doğrulanması
- Test sonuçlarının yorumlanması

Her basamağı içeren detaylı test rehberleri ülkenin ve akreditasyon kurumunun ilgili yönetmeliklerine uygun olarak hazırlanmalıdır. Spesifik prosedürler de üreticinin ekipman veya kit hakkındaki yönergelerine uymalıdır. CLSI'nın GP2 dökümanı "*Laboratory Documents: Development and Control*" prosedürlerin hazırlanması için rehber niteliğindedir. Ek identifikasyon için gereğinde izolat gönderme kuralları ve duyarlılık testine ait kurallar da test rehberlerinde yer almalıdır.

Analiz sürecinde yapılacak işlemlerin takibi yanı sıra kültür işlemlerini uygulayan teknik personelin yetkinlik izleminin yapılması da büyük önem taşımaktadır. Bu izlemler en az yılda bir kez laboratuvarın sorumlusu tarafından yapılarak *yetkinlikler* değerlendirilmelidir.

İnceleme işlemi sırasında hastalar için önemli olabilecek ön bilgiler (Gram boyanma sonuçları, ön antibiyogram sonucu vb.) ilgili servise duyurulmalıdır. Sonuç raporlarının verifikasyonu ön sonuçlar ile birlikte değerlendirilerek rapor edilmelidir. Önemli tutarsızlıklar (örneğin ön raporda gram-negatif diplokok bildirilmiş iken sonuç raporunda *Streptococcus pneumoniae* üremesi bildirilmesi gibi) laboratuvar sorumlusu tarafından incelenmeli ve derhal klinik hekime laboratuvar politikasına uygun şekilde iletilmelidir.

Kan kültürü inceleme sonuçlarına gereğinde açıklama da eklenerek rapor edilebilir. Test rehberleri kan kültürü inceleme basamakları yanı sıra potansiyel yalancı negatif

veya yalancı pozitiflik nedenleri ve bunlardan kaçınmak için yapılması gerekenleri de içermelidir.

Kalite güvence göstergesi örneği 1: Kritik sonuç bildirim oranları (Kan kültürlerinin kritik sonuçları ilgili sağlık çalışanına 1 saat içinde ulaştırılmalı ve konuşmanın detayları kayıt altına alınmalıdır).

Kalite güvence göstergesi örneği 2: Bildirilen sonuçlara düzeltme gerektiren kan kültürleri oranı

3. Çalışma Sonrası İşlemler

Kan kültürü incelemesinde çalışma sonrası işlemler aşağıdaki bileşenleri içerir:

- Sonuçların raporlanması ve arşivlenmesi
- Örnek yönetimi

Bu bileşenlerin her biri için ayrıntılı prosedür veya yönergeler hazırlanır.

3.1 Sonuçların raporlanması

Kan kültürü sonuçları raporlanmadan önce kontrol edilmelidir. Laboratuvar raporları okunaklı ve anlaşılır bir dille yazılmış olmalıdır. Açık, standartlaşmış terminolojiler kullanılmalı ve kısaltmalardan kaçınılmalıdır. Gerektiğinde sadece rehberlerce belirlenen kısaltmaları kullanmak sonuçları yanlış yorumlamayı önler.

Laboratuvar sorumlusu düzeltilmiş raporları da günlük olarak incelemeli, kontrol etmelidir.

Kalite güvence göstergesi örneği: Kalite kontrol göstergeleri sürekli takip edilmeli ve sonuçlar laboratuvar çalışanları ile de paylaşılmalıdır. Kan kültürlerinin kalitesini artırmak için yapılan düzenleme ve eğitimlerin etkinliği ile ilgili de gözlem yapılmalı ve kayıt altına alınmalıdır.

Sonuçların raporlanma aşamasında önemli bir kalite göstergesi *sonuç verme süresi* "turn-around time" dir. Bu süre örneğin laboratuvara kabulünden başlayıp sonuç raporunun laboratuvar sorumlusu tarafından onaylanmasına kadar geçen süreyi ifade eder. Bu süreyi olabildikçe kısaltabilmek hastalara kısa sürede uygun tedavinin başlanabilmesi açısından çok yararlı olacaktır. Ayrıca hasta örneğine tüm identifikasyon basamaklarını uygulamadan direkt antibiyogram uygulanması da bu süreyi kısaltması açısından bazı merkezlerce kullanılmaktadır.

3.2 Sonuçların Saklanması

Kan kültürü sonuç raporları yasal otoritenin ön gördüğü şekilde ve akreditasyon standartlarına uygun olarak saklanmak zorundadır. Kayıtların depolanması

hakkındaki protokoller ayrıntılı olarak yazılmalı, depolanacak kayıtları, saklama yerini, yöntemini ve depolama süresini tanımlamalıdır. CLSI GP26 dökümanı “Application of a Quality Management System Model for Laboratory Services” Appendix D, çeşitli laboratuvar kayıtlarını saklamaya yönelik yapılacaklarla ilgili bir rehber içermektedir.

Bu sürecin sonunda hastanelerin ayakta kalabilmesinde önemli bir kural da yaptığı harcamaları doğru faturalandırarak geri ödemelerini doğru bir şekilde alabilmesidir. Bu basamakta bir kalite kontrol uygulaması da üç ayda bir rastgele beş hasta seçerek bu hastalar ait sonuçların doğru saklanıp saklanmadığı, laboratuvar dan hastane bilgi sistemine doğru aktarılıp aktarılmadığı ve uygun faturalandırılıp faturalandırılmadığının kontrolüdür.

3.3 Konsültasyon

Laboratuvar sorumlusu, kan kültürü incelemesinin sonucuyla ilgili olarak gereğinde yorumlarını eklemeli ve ilgili klinisyenin danışabilmesi amacıyla ulaşılabilir olmalıdır. Uygun gördüğünde ek klinik bilgiyi veya laboratuvar incelemesini önermelidir.

Sonuç olarak kan kültürü incelemelerinde kalite güvencesinin sağlanması çalışma öncesi, çalışma sırasında ve çalışma sonrasında tüm süreçlerin takibi, izlenmesi ve sürekli iyileştirme ile mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Akalın H.: Sepsis tanımlar, tanı, Etyoloji ve Epidemiyolojide Yeni Gelişmeler. 3.Ulusal Yoğun Bakım İnfeksiyonları Simpozyumu, 18 Mayıs-20 Mayıs 2007 – Nevşehir
2. Al-Juaid A, Walkty A, Embil J, Crockett M, Karlowsky J. Differential time to positivity: vascular catheter drawn cultures for the determination of catheter-related bloodstream infection. Scand J Infect Dis. 2012 Oct;44(10):721-5
3. Ataman Hatipoğlu C, Ipekkan K, Oral B, Onde U, Bulut C, Demiröz AP. Assessment of diagnostic methods for the catheter-related bloodstream infections in intensive care units. Mikrobiyol Bul. 2011 Jan;45(1):75-85.
4. Barenfanger J, Drake C, Kacich G. Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. J Clin Microbiol 1999; 37(5):1415–1418

5. Baron E J, Miller M J, Weinstein M P, Richter S S, Gilligan P H et al.: A Guide to utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Disease: 2013 Recommendations by the Infectious Disease Society Of America (IDSA) and The American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis* 2013, 57:e22-121
6. Baron E J, Thomson R B: Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology,” J Versalovic, K C Carroll, J H Jorgensen, G Funke, M L Landry, D W Warnock (eds): *Manual of Clinical Microbiology* “ 10. Baskı kitabında s. 228-271, ASM Press, Washington D.C, 2011.
7. Baron EJ, Weinstein MP, Dunne WM Jr, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. *Cumitech 1C, Blood Cultures IV*. Coordinating ed., Baron EJ. 2005 ASM Press, Washington, D.C.
8. Beekmann SE, Diekema DJ, Chapin KC, Doern GV. Effects of rapid detection of blood stream infections on length of hospitalization and hospital charges. *J Clin Microbiol* 2003; 41(7):3119–3125
9. Beekmann SE, Henderson DK. Infections caused by percutaneous intravascular devices. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Elsevier, Churchill-Livingstone Inc., Philadelphia, 2010: 3497-715.
10. Bouza E, Alvarado N, Alcalá L, Pérez MJ, Rincón C, Muñoz P. A randomized and prospective study of 3 procedures for the diagnosis of catheter-related bloodstream infection without catheter withdrawal. *Clin Infect Dis*. 2007 Mar 15;44(6):820-6.
11. Bouza E, Burillo A, Muñoz P. Catheter-related infections: diagnosis and intravascular treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2002 May;8(5):265-74.
12. Bradley SF, Kaufman CA. Infections associated with vascular catheters. In: Rippe JM, Irwin RS, Fink MP, Cera FB(eds). *Intensive Care Medicine*. 3rd ed, Little, Brown and Company, Boston, 1996:1141-1152.
13. Bryan CS. Clinical implications of positive blood cultures. *J Clin Microbiol* 1989; 2:329–353.

14. Chen WT, Liu TM, Wu SH, Tan TD, Tseng HC, Shih CC. Improving diagnosis of central venous catheter-related bloodstream infection by using differential time to positivity as a hospital-wide approach at a cancer hospital. *J Infect.* 2009 Nov;59(5):317-23
15. Crump JA, Tanner DC, Mirrett S, et al. Controlled comparison of BACTEC 13A, MYCO/F LYTIC, BacT/ALERT MB, and ISOLATOR 10 systems for detection of mycobacteremia. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1987–1990.
16. Cunha BA. Intravenous line infections. *Critical Care Clinics* 1998; 14:339-346.
17. Doern GV, Gantz NM. Detection of bacteremia in patients receiving antimicrobial therapy: an evaluation of the antimicrobial removal device and 16B medium. *J Clin Microbiol* 1983; 18(1):43–48
18. Dunne Jr WM, Nolte FS, Wilson ML. Hindler JA Coordinating ed. *Cumitech 1B, Blood Cultures III*. Washington DC: ASM Press, 1997
19. Flaws M L: Bacteremia and Sepsis,” C R Mahon, D C Lehman, G Manuselis(eds): *Textbook of Diagnostic Microbiology*” 4. Baskı kitabında, s.867-882, Saunders-Elsevier, Printed China, 2011.
20. Garcia L S, Isenberg H D: *Clinical Microbiology Procedures Handbook, Vol I*, 3. Baskı, 3.4.1-3.4.1.20, ASM Press, 2010.
21. Heckly RJ. Preservation of microorganisms. *Adv Appl Microbiol* 1978; 24: 1-53
22. Hoen B, Duval X: Infective endocarditis. *N Engl J Med* 2013; 368:1425-33.
23. [http:// www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/4PSC_CLABScurrent.pdf](http://www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/4PSC_CLABScurrent.pdf) . Erişim tarihi: 14 Haziran 2013
24. http://hastaneenfeksiyonlari.saglik.gov.tr/dosya/analiz_2010.pdf. Erişim tarihi: 01 Mayıs 2013
25. http://www.cdc.gov/nhsn/PDFs/dataStat/NHSN-Report_2010-Data-Summary.pdf. Erişim tarihi: 15 Mayıs 2013
26. Kellogg J A, Manzella J P, and Bankert D A: Frequency of low- level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. *J Clin Microbiol* 2000, 38:2181-2185.
27. Kim TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:513-20.
28. Lamy B, Seifert H: Septicemia,”G Cornaglia, R Courcol, J L Hermann, G Kahlmeter, H P Lafeuille, J Vila(eds):*European Manual of Clinical Microbiology*” kitabında s.101-110, ESCMID-SFM, (European Society for

Clinical Microbiology and Infectious Diseases- Basel, Société Française de Microbiologie) 2012.

29. Madani TA. Clinical infections and bloodstream isolates associated with fever in patients undergoing chemotherapy for acute myeloid leukemia. *Infection* 2000; 28(6):367–373
30. Maki DG, Weise CE, Sarafin [HW](#). A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. [N Engl J Med](#). 1977 Jun 9;296(23):1305-9.
31. Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ, Raad II, O'Grady N, Harris JAS, Craven DE. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* 2001; 32 : 1249-1272.
32. Mirrett S, Weinstein MP, Reimer LG, Wilson ML, Reller LB. Relevance of the number of positive bottles in determining clinical significance of coagulase-negative staphylococci in blood cultures. *J Clin Microbiol* 2001; 39(9): 3279-3281
33. Munier G, Black D, Snyder J. Evaluation of BacT/ALERT blood culture media for the detection and recovery of *Histoplasma capsulatum* from blood, abstr. C-101, p. 140. Abstr. 104th Gen. Meet. Am. Soc. Microbiol. 2004. American Society for Microbiology, Washington.
34. Munson EL, Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Doern GV. Detection and treatment of bloodstream infection: laboratory reporting and antimicrobial management. *J Clin Microbiol* 2003; 41(1):495–497
35. Murray PR, Masur H. Current approaches to the diagnosis of bacterial and fungal bloodstream infections in the intensive care unit. *Crit Care Med*. 2012;40:3277-82.
36. Mylotte J.M., Tayara A.: Blood Cultures: Clinical Aspects and Controversies, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2000) 19 :157–163
37. National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004;32: 470-485.
38. Peacock SJ, Bowler IC, Crook DW. Positive predictive value of blood cultures growing coagulase-negative Staphylococci. *Lancet* 1995; 346(8968): 191-192
39. Pearson ML. Guideline for prevention of intravascular device-related infections. Part I. Intravascular device-related infections: an overview. *The*

- Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Am J Infect Control* 1996; 24: 262-277.
40. Polderman KH, Girbes ARJ. Central venous catheter use. Part 1. Mechanical complications. *Intensive Care Medicine* 2002; 28:1-17.
 41. Polderman KH, Girbes ARJ. Central venous catheter use. Part 2: Infectious complications. *Intensive Care Medicine* 2002;28:18-28.
 42. Raad II, Bodey GP. Infectious complications of indwelling vascular catheters. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 197-208.
 43. Reimer LG, Carroll KC. Procedures for the storage of microorganisms. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of clinical microbiology*. 8th ed. Washington DC: ASM press, 2003: 67-73
 44. Richter SS, Beekmann SE, Croco DJ, Koontz FP, Pfaller MA, Doern GV. Minimizing the workup of blood culture contaminants: implementation and evaluation of a laboratory-based algorithm. *J. Clin. Microbiol* 2002; 40(7):2437–2444
 45. Roiz MP, Peralta FG, Valle R, Arjona R. Microbiological diagnosis of brucellosis. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1819.
 46. Safdar N, Fine JP, Maki DG. Meta-analysis: methods for diagnosing intravascular device-related bloodstream infection. *Ann Intern Med.* 2005 Mar 15;142(6):451-66.
 47. Seifert H, Wislinghoff H: Bloodstream infection and endocarditis,” S P Borriello, PR Murray, G Funke(eds):Topley-Wilsons, Bacteriology Vol I, 10. Baskı Kitabında s.509- 554, Hodder Arnold, ASM Press, London(2005).
 48. Tokars JI. Predictive value of blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: implications for patient care and health care quality assurance. *Clin Infect Dis* 2004; 39(3):333–341
 49. Towns M.L., Jarvis W.R., Hsueh P.R.: Guidelines on Blood Cultures, *J Microbiol Immunol Infect* 2010;43(4):347–349
 50. Vetter E, Torgerson C, Feuker A, et al. Comparison of the BACTEC MYCO/F Lytic bottle to the Isolator tube, BACTEC Plus Aerobic F/bottle, and BACTEC Anaerobic Lytic/10 bottle and comparison of the BACTEC Plus Aerobic F/bottle to the Isolator tube for recovery of bacteria, mycobacteria, and fungi from blood. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 4380–4386.

51. Weinstein MP, Mirrett S, Van Pelt L, et al. Clinical importance of identifying coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures: Evaluation of microscan rapid and dried overnight gram-positive panels versus a conventional reference method. *J Clin Microbiol* 1998; 36(7): 2089-2092
52. Weinstein MP, Murphy JR, Reller LB, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. II. Clinical observations, with special reference to factors influencing prognosis. *Rev Infect Dis* 1983; 5(1): 54-70
53. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis* 1997; 24(4): 584-602
54. Weinstein MP. Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. *J Clin Microbiol.* 41(6):2275–2278
55. Wilson M L, Mitchell M, Morris AJ, Murray PR, Reimer LG, Reller LB Towns M, Weinstein MP, Wellstood SA, Dunne WM, Jerris JRC, and Welch DL. (eds): Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute, M47-A, Vol.27 Number 17, Wayne, Pennsylvania, 2007.
56. Winn WC, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Lippincotts Williams Wilkins, 6th edition, 2005.
57. Wisplinghoff H, Seifert H, Tallent SM, Bischoff T, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in pediatric patients in United States hospitals: epidemiology, clinical features and susceptibilities. *Pediatr Infect Dis* 2003; 22(8):686–691
58. Yagupsky P, Peled N, Press J, et al. Comparison of BACTEC 9240 Peds Plus medium and Isolator 1.5 microbial tube for detection of *Brucella melitensis* from blood cultures. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1382–1384.
59. York MK. *Leptospira* culture, p. In H. D. Isenberg (ed. in chief), *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2nd ed. ASM Press, Washington, 2004: p:1-5.