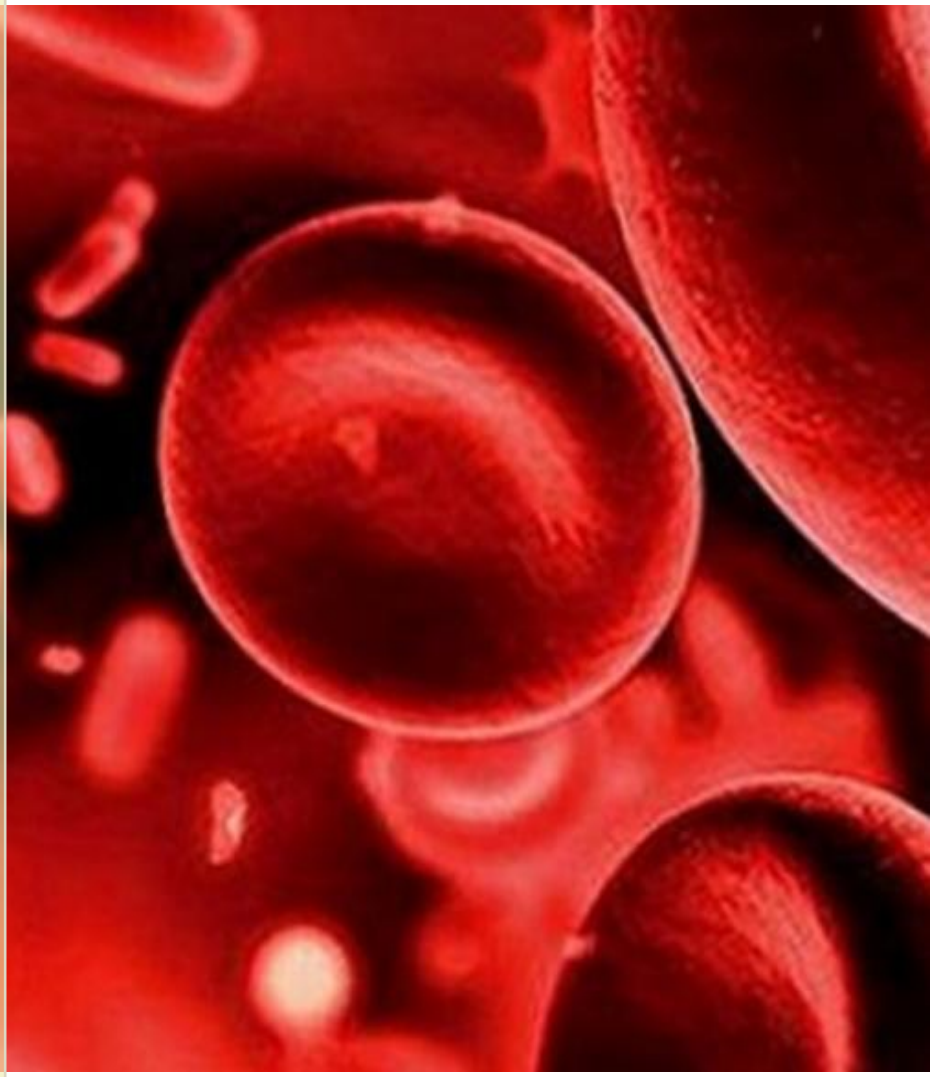
KLİMUD REHBERLERİ

Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları için



KAN DOLAŞIMI ÖRNEKLERİNİN LABORATUVAR İNCELEMESİ REHBERİ

2. Baskı, 2022 / ANKARA
KLİMUD.KAN.REH.04/22.Ver02

Bu rehber Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD) tarafından hazırlatılmış olup rehberin her türlü yayın, basım ve dağıtım hakkı KLİMUD'a aittir. KLİMUD'un yazılı izni olmadan rehberin tümü ya da bir bölümü herhangi bir ortamda yayınlanamaz ve/veya çoğaltılamaz. Ancak kaynak gösterilerek kısa alıntılar yapılabilir. Rehber ilgili kişi ve kurum/kuruluş için hazırlanmış olup ücretsizdir ve para ile satılamaz.

Nisan 2022, Ankara

ISBN: 978-605-84108-7-9

KLİMUD Kaynak No: 13

Düzeltilmiş 2. Baskı

KLİMUD-KAN.REH.04/22.Ver02

REHBER KOORDİNASYON KURULU (RKK)

Efsun AKBAŞ (Başkan)
Duygu FINDIK
Aydan ÖZKÜTÜK
Serap SÜZÜK YILDIZ
Ayşın ZEYTİNOĞLU

KAN DOLAŞIMI ÖRNEKLERİNİN LABORATUVAR İNCELEMESİ REHBERİ ÇALIŞMA GRUBU*

Başkan
Banu SANCAK

Yazıcı Üyeler
Gönül BAL AKSU
Aynur EREN TOPKAYA
Ayşegül GÖZALAN
Zeynep Ceren KARAHAN
Esra KARAKOÇ
Dilek Yeşim METİN
İpek MUMCUOĞLU
Esra ÖZKAYA
Serap SÜZÜK YILDIZ
Nurver TOPRAK

Uygulayıcı Üyeler
Yeşim BEŞLİ
Melike YAŞAR DUMAN

Klinisyen Üyeler
Vildan AVKAN OĞUZ
Hüsnü PULLUKÇU

KLİMUD REHBERLERİ GÖZDEN GEÇİRME KURULU (GGK)

Gülay AKARSU
Şöhret AYDEMİR
Neriman AYDIN
Gülendam BOZDAYI
Gülden ÇELİK
Feriha ÇİLLİ
Melek DEMİR
Beyza ENER
Neşe GÖL
Demet HACISEYİTOĞLU
Süleyha HİLMİOĞLU POLAT
Nedret KOÇ
Dilek METİN
Özlem MİMAN
Betigül ÖNGEN
Tuncer ÖZEKİNCİ
Arzu SAYINER
Cemile SÖNMEZ
Süheyla SÜRÜCÜOĞLU
Burçin ŞENER

(*) Soyadına göre alfabetik dizin

Teşekkür…

KLİMUD Rehberleri doğası gereği güncellemeler yapılan dokümanlardır ve her güncelleme önceki baskılara katkıları geliştirmekte, genişletmektedir. İlk baskıların yayınlanmasından bu yana alanımızdan birçok bilim insanı bu çok önemli çalışmaya katkıda bulunmuştur.

RKK olarak, aşağıda adı geçen değerli uzmanlara, 'Kan Dolaşımı Örnekleri Laboratuvar İnceleme Rehberi'nin önceki baskılarının koordinasyonunda, okunmasında ve değerlendirilmesinde verdikleri katkılardan dolayı şükranlarımızı sunuyoruz.

Hakan ABACIOĞLU, Ali ADİLOĞLU, Gökhan AYGÜN, Mehmet BAYSALLAR, Hilal BÖLÜKBAŞI
İlknur ERDEM, Selda ERENSOY, Berrin ESEN, Naciye GÖNÜL TANIR,
Nezahat GÜRLER, Belkıs LEVENT, Cüneyt ÖZAKIN,
Güner SÖYLETİR, Birol ŞAFAK, Pınar ZARAKOLU KÖŞKER

İçindekiler

Bu rehberi nasıl kullanacaksınız? viii
Kısaltmalar ve tanımlar ix
Anahtar kelimeler / Key words ix
Biyogüvenlik uygulamaları xi

BÖLÜM 1- KAN KÜLTÜRÜ ALINMASINI GEREKTİREN KLİNİK DURUMLAR 1

Giriş 1
Tanımlar 2
Bakteriyemi/fungemiye neden olan klinik tablolar 3
Kateter ile ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları (KİKDE) 3
Üriner sistem enfeksiyonları 3
Alt solunum yolu enfeksiyonları 3
İntraabdominal enfeksiyonlar 4
Deri enfeksiyonları 4
Enfektif endokardit 4

Neonatal sepsis 5
Çocuklarda kan dolaşımı enfeksiyonu 5
Gebelerde kan dolaşımı enfeksiyonu 6
Bağışıklık yetmezliği olan hastalarda kan dolaşımı enfeksiyonu 6

BÖLÜM 2 - KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNİN ALINMASI 7

Set kavramı 7
Önerilen kan kültürü seti sayısı 8
Alınacak kan miktarı 9
Erişkin hastalar 9
Çocuk hastalar 9

Kanın şişelere dağıtılma sırası 10
Kan kültürü alınma zamanı 10
Kan kültürü alma işlemi 11
Hazırlık 11
Malzemeler 12
Örneklerin alınması 12

Kan kültürü şişesine alınabilen diğer örnekler 13
Kan kültürlerinde kontaminasyonun önlenmesi 14

BÖLÜM 3 - KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNİN TAŞINMASI VE SAKLANMASI, KABUL/RET ÖLÇÜTLERİ 17

Kan kültürü isteminde bulunması gereken bilgiler 17
Her bir kan kültürü şişesi üzerinde bulunması gereken bilgiler 17
Kan kültürlerinin laboratuvara ulaştırılması sırasında uyulması gereken kurallar 17
Kan kültürlerinin laboratuvara kabulü 18
Kan kültürü ret ölçütleri 18

BÖLÜM 4 - KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNİN İŞLENMESİ VE İŞ AKIŞI 21

Etken mikroorganizmanın saptanmasını etkileyen faktörler 21
Üreme sinyali vermeyen şişelerden kör ya da son pasaj 22
Laboratuvarda kan kültürlerinin değerlendirilmesi 23
Biyogüvenlik 23
Pozitif sinyal veren şişelerin değerlendirilmesi 23
Pasajların değerlendirilmesi 25
Kan kültürü şişelerinde ve/veya standart besiyerlerine yapılan pasajlarda güç üreyen mikroorganizmalar 26

Mikobakteri türlerinin tanısında kan kültürü 27
Mantarların tanısında kan kültürü 28
Hızlı tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testleri 29
Kan kültürü şişelerinden hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi 30
Yöntem doğrulama ve kalite kontrol uygulamaları 34

Kontaminasyon 35
Tutarsız sonuçlar 36

BÖLÜM 5 - SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE YORUMLANMASI 37

Sonuçların değerlendirilmesi 37
Mikroorganizmanın izolasyonu ve tanımlaması 37
Etken/kontaminant ayrımı 38

Kan kültüründe kontaminasyonun tanımı 38
Etken/kontaminant ayrımında dikkate alınacak ölçütler 39

Polimikrobiyal bakteriyemi 39
İzolatların saklanması 39
KİKDE tanısında laboratuvar yaklaşımı 39
Kateterin çıkartıldığı durumlarda KİKDE tanısı 40
Kateterin korunduğu durumlarda KİKDE tanısı 41

BÖLÜM 6 - KAN/KATETER KÜLTÜRÜ SONUÇLARININ RAPORLANMASI 43

Pozitif kan kültürlerinin raporlanması 44
Kontaminasyon olduğu düşünülen kan kültürlerinin raporlanması 45
Üreme olmayan kan kültürlerinin raporlanması 45

BÖLÜM 7 - KAN KÜLTÜRÜ KALİTE KONTROLÜ 47

Kan kültürünün yöntem doğrulaması (verifikasyonu) 47
İnokülasyon ile yöntem doğrulaması 48
Paralel kan kültürü ile yöntem doğrulaması 49

Kalite göstergelerinin izlenmesi 49

EKLER 53

Ek 1 - Gösterge takip formu örnekleri 53
FORM 1 - Kan kültürlerinde kontaminasyon oranı formu 53
FORM 2 - Kan kültürlerinde direkt Gram boyama ve son tanımlama uyum oranı formu 54
FORM 3 - Kan kültüründe pozitif sonuç oranı formu 55
FORM 4 - İki ve üzeri set kan kültürü alınma oranı formu 56
FORM 5 - Tek şişe alınan kan kültürü seti oranı formu 57
FORM 6 - Alındıktan sonra 2 saat içinde laboratuvara teslim edilmeyen kan kültürü seti oranı formu 58
FORM 7 - Kan kültüründe yalancı pozitiflik oranı formu 59
FORM 8 - Pozitif sinyal anı ile bildirim anı arasında geçen ortalama süre formu 60

Ek 2 - Kan kültürü alma işlemi kontrol listesi 61
Kaynaklar 62

TABLOLAR

Tablo 1 Klinik durumlara göre alınması önerilen kan kültürü seti sayısı 8
Tablo 2 Çocuk hastalardan alınması gereken kan hacmi 9
Tablo 3 Preanalitik süreçte kontaminasyonu arttıran hatalar 14
Tablo 4 Cilt antisepsisinde kullanılan antiseptik solüsyonlar ve uygulama şekilleri 15
Tablo 5 Kan kültürü şişelerinde üreme olduğunu gösteren makroskopik bulgular 18
Tablo 6 Düzeltici-önleyici faaliyet başlatılması gereken uygunsuz kan kültürü istemleri 19
Tablo 7 Pozitif sinyal veren şişelerden pasaj yapılacak besiyerleri ve inkübasyon koşulları 24
Tablo 8 Gram boyama sonuçlarına göre olası etkenlere yönelik ek öneriler 25
Tablo 9 Özel etkenler ve uygun tanı yöntemleri 27
Tablo 10 Sepsisin hızlı tanısında kullanılabilecek ticari sistemler 29
Tablo 11 EUCAST-HADT için kullanılan diskler 32
Tablo 12 ADT plaklarının inkübasyon koşulları 33
Tablo 13 4, 6 ve 8 saatlik inkübasyon sonunda zon çaplarının değerlendirilme oranı 33
Tablo 14 Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) taraması 35
Tablo 15 Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae izolatlarında karbapenemaz taraması 35
Tablo 16 İki set kan kültürü alınan bir hastada, kan kültürlerinde aynı olası kontaminant mikroorganizmanın izole edilmesi durumunda üremenin yorumlanması 38
Tablo 17 Kan kültürü setlerinde olası kontaminant mikroorganizma üremesi saptanan şişelere göre örnek raporlar 45

ŞEKİLLER

Şekil 1 Çocuk hastalar için farklı rehberlerde kiloya göre alınması önerilen kan hacmi 10
Şekil 2 Kan kültürü çalışmasında kalite kontrol noktaları 51

Bu Rehberi nasıl kullanacaksınız?

KLİMUD Rehberleri'nin amacı Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlarımıza, örnek alınmasından raporlama aşamasına kadarki tüm süreçlerin yönetilmesinde yardımcı kaynak olmaktır.

Bu rehber tanı amacıyla laboratuvara gönderilen 'kan dolaşımı örnekleri' incelemeleri için Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarlarının günlük uygulamalarında kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Rehberin; örneklerin alınması, laboratuvara gönderilmesi, laboratuvarda işlenmesi, kültürlerin değerlendirilmesi, sonuçların yorumlanması ve raporlanması konularında Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlarına yol gösterici olması hedeflenmiştir. Metinler okuyucunun kolayca bilgiye ulaşmasını gözeten tablolar ve algoritmalar ile desteklenmiştir. Rehberin; uzmanın doğru ve hızlı sonuç verebilecek, sağlık hizmeti kalitesini artıracak ve maliyet etkin uygulamaları gözetecek bir yaklaşımı geliştirmesine destek olacağı da umut edilmektedir.

Bölümler içerisinde yer alan "**bilgi notları**" konu ile ilgili olarak bilinmesi gereken en önemli noktalara, "**uyarı**" kutucukları ise özellikle uygulamada dikkatli olunması gereken süreçlere vurgu yapmakta olup, bu amaçla tüm rehberde aşağıda yer alan simgeler kullanılmaktadır.

Rehberde "Biyogüvenlik Uygulamaları"na ise kısaca –kan dolaşımı örnekleri ile çalışan bir laboratuvar için öncelikli güvenlik önlemlerini hatırlatıcı düzeyde– yer verilmiştir. Laboratuvarlar yürüttükleri çalışmaların tüm kapsamı için *risk analizi temelinde* uygun biyogüvenlik önlemlerini almak üzere daha fazla bilgiye "UMS(2021)-Laboratuvar Güvenliği Rehberi" ve konuya özel diğer kaynaklardan ayrıca ulaşmalıdır.

Bilgi simgesi
İlgili örnek ve/veya enfeksiyon hakkında mutlaka bilinmesi gereken bilgi

Uyarı-dikkat çekme simgesi
Önemli mesajlar/uygulamalar

Raporlama simgesi
İlgili örneğin raporlanmasında kullanılan farklı şablonlar

Kısaltmalar ve tanımlar

ADT antimikrobiyal duyarlılık testi
ATCC American Type Culture Collection
BGD biyogüvenlik düzeyi
BGK biyogüvenlik kabini
BCYE buffered charcoal yeast extract (agar)
cfu colony forming unit (koloni oluşturan birim)
DDT disk difüzyon testi
DNA deoksiribonükleik asit
EMB eosin-methylene blue (agar)
ESİ-MS elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometrisi
EUCAST The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
HADT hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi
GSBL genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
HACEK *Haemophilus, Aggregatibacter, Cardiobacterium, Eikenella corrodens, Kingella* türleri
HT hızlı tanımlama
IFA indirekt floresan antikor (testi)
KİKDE kateter ile ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu
KKA koyun kanlı agar
KKD kişisel koruyucu donanım
KNS koagülaz negatif stafilokok
MAC MacConkey agar
MHA Mueller Hinton agar
MHA-F Mueller Hinton fastidious agar
mL mililitre
PCR polymerase chain reaction (polimeraz zincir reaksiyonu)
SDA Sabouraud dekstroz agar
SF serum fizyolojik
SHİE sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyon
UMS Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (2014) (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu [şimdiki adı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü] tarafından yayınlanmış olan, bulaşıcı hastalıkların tanısı için uygulama prosedürleri, laboratuvar güvenliği, enfeksiyöz madde taşınması, vb. konularda standart yöntemleri ve algoritmaları içeren kaynak rehber doküman)

Anahtar kelimeler / Key words

aerobik kan kültürü, anaerobik kan kültürü, antimikrobiyal duyarlılık, bakteriyemi, fungemi, kan dolaşımı enfeksiyonu, kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu, kan alma prosedürleri, kan kültürü, kan kültürü kontaminasyonu, kontaminasyon, kontaminasyon oranları, polimikrobik bakteriyemi, sepsis, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu, kan kültürü seti, periyot, pasaj, yalancı pozitif, yalancı negatif

/

aerobic blood culture, anaerobic blood culture, antimicrobial susceptibility, bacteremia, fungemia, blood stream infection, catheter related blood stream infection, blood collection procedure, blood culture, blood culture contamination, contamination, contamination rates, polymicrobic bacteremia, sepsis, systemic inflammatory response syndrome, blood culture set, period, subculture, false positive, false negative

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

Biyogüvenlik uygulamaları

Tanı amaçlı incelemeler için kan dolaşımı örnekleri ile çalışırken laboratuvar personelinin karşı karşıya olduğu **en ciddi risk;** kan ve kan ürünleri ile bulaşabilen patojenlere (HIV, HBV, …) ve aerosol yoldan bulaşabilen patojenlere (*örn., Brucella* spp., *Francisella tularensis*…) maruz kalma ve enfeksiyon riskidir. İşlemler *asgari* **biyogüvenlik düzeyi 2** (BGD2) laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmeli, eldiven, bedeni tam kapatan önlük, maske dâhil, evrensel önlemler alınmalıdır.

Mikroaerosol üretme potansiyeli ya da sıçrama/saçılma riski olan her türlü prosedür (*örn.*, vorteksleme, pipetaj, katalaz testi, vb.) bir **biyogüvenlik kabini** (BGK) içinde yürütülmelidir. Henüz tanımlanmamış olduğu aşamada üreme gösteren kan kültürü şişelerinin aerosol yoldan bulaşma potansiyeli yüksek mikroorganizmaları (*Brucella* spp., vb.) içerebileceği daima akılda tutulmalı, bu kültürler ile ilgili izleyen tüm çalışmalar (yaymaların hazırlanması, kültür plaklarına ekim, santrifüj tüplerinin açılması, biyokimyasal ve moleküler testler, vb.) **BGK** içinde yapılmalıdır.

Bütün örnekler, eğer **santrifüj** edileceklerse, kapaklı santrifüj rotorları veya örnek kapları kullanılmalı; rotorlar ve kaplar *ideal olarak* bir BGK içinde yüklenmeli ve boşaltılmalıdır. BGK dışındaki prosedürler kazara örnek saçılmasına maruz kalma olasılığını en aza indirecek şekilde gerçekleştirilmelidir. Örnekler işlendikten sonra her zaman çalışma yüzeyleri ve ekipman uygun bir dezenfektan ile dekontamine edilmelidir.

Mikroskopi için kullanılmış lamlar, çeşitli aktarma işlemleri için kullanılmış pipet uçları ile kültürler için kullanılmış tek kullanımlık özeler **kesici-delici atık** kabul edilirler ve **kesici-delici atık kabı**na atılırlar. Bu kutular delinmeye dayanıklı sert çeperli, kapağı asla açılamaz, boşaltılamaz ve tekrar kullanılamaz özellikte (tek kullanımlık) olmalıdır. Gerçekte pipet uçları ve tek kullanımlık özeler insan cildi için kesici-delici nitelikte olmamakla birlikte, diğer biyolojik kirlilerin konduğu torbalara atılmaları halinde torbayı delerek sızıntıya neden olabilirler ve ciddi enfeksiyöz risk doğurabilirler; bu nedenle **kesici-delici atık kabı**na atılmalıdırlar.

İlgili personel SARS-CoV-2'ye karşı aşılanmış olmalı, ayrıca çalışan personelin diğer potansiyel laboratuvar kaynaklı enfeksiyonlara karşı bağışıklık durumları değerlendirilmeli; bağışıklık değillerse aşılanmalıdırlar.

Laboratuvarlar, BGD2 laboratuvar koşullarını sağlamak, çalışmalarının bütünü için *risk değerlendirmesi temelinde* uygun önlemleri almak ve güvenli laboratuvar uygulamalarını her yönü ile hayata geçirebilmek için ayrıca "UMS(2021)-Laboratuvar Güvenliği Rehberi"ne başvurmalıdır.

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

BÖLÜM 1

KAN KÜLTÜRÜ ALINMASINI GEREKTİREN KLİNİK DURUMLAR

Giriş

Kan dolaşımı enfeksiyonlarının tanısı, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarının en acil ve önemli işlerinden biridir. Kan dolaşımı enfeksiyonlarının ancak %35'inde kan kültürleri pozitif sonuçlansa da yöntem, etkenin izole edilmesinin yanı sıra antimikrobiyal duyarlılık testlerinin de yapılmasına olanak sağladığı için halen 'altın standart'tır.

Gerçek etkenlerin saptanması ve tüm pozitif bulguların olabildiğince hızlı bir şekilde klinisyene bildirilmesi, ampirik tedaviden etkene yönelik tedaviye geçiş süresini azaltarak morbidite ve mortaliteyi doğrudan etkilemektedir. Tıbbi mikrobiyoloji uzmanının bu konudaki sorumluluğu sadece laboratuvarda kan kültürleri ile ilgili işlemlerin yapılması ile sınırlı değildir. Aynı zamanda, doğru endikasyonlar ile uygun miktarda örneğin antisepsi kurallarına uyularak alınması ve laboratuvara doğru bir şekilde taşınmasının sağlanması gibi preanalitik süreçler ile laboratuvarda kan kültürü üremelerinin doğru bir şekilde değerlendirilerek raporlanması gibi postanalitik süreçler, tıbbi mikrobiyoloji uzmanının en önemli görevleri arasında bulunmaktadır. Bu nedenle kan kültürleri ile ilgili kalite göstergeleri sürekli olarak izlenmeli ve gerektiğinde doğru uygulamaların yapılmasını sağlamak için kan kültürlerinin alınışı ve laboratuvarda yapılan işlemler ile ilgili eğitimler verilmelidir.

Kan kültürleri, bakteriyemi, fungemi, enfektif endokardit ve nedeni bilinmeyen ateşin tanısı için son derece önemlidir. Ayrıca; protez enfeksiyonları (eklem, vasküler greft, vb.), kateter ile ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları (KİKDE), pnömoni, menenjit, septik artrit ve osteomiyelit gibi enfeksiyonların tanısında da kan kültürleri önemli bir yere sahiptir.

Bu rehber, kan kültürleri ile ilgili doğru uygulamaların yaygınlaşmasına katkı sağlamak amacıyla hazırlanmıştır. Rehberde kan kültürlerinin; uygun endikasyonlarda, uygun dezenfeksiyon ve antisepsi işlemleri yapılarak klinik tanıya uygun olan miktarda kan alınması, laboratuvara gönderilmesi, laboratuvarda kan kültürlerinin değerlendirilmesi ve kliniğe raporlanması ile ilgili doğru uygulamalar ve kalite göstergelerinin takibi ile ilgili güncel kurallar yer almaktadır. Pozitif kan kültürleri için uygulanabilecek hızlı tanı testlerine ve doğrudan klinik örnekte çalışılabilecek moleküler yöntemlere değinilmiş, ancak detaylarına girilmemiştir. Ülkemizde yaygın olarak kullanılan otomatize sistemler göz önünde bulundurulmuş, geleneksel yöntemlere değinilmemiştir. Parazitlerin ve virüslerin kanda saptanması ile ilgili önerilere de rehberde yer verilmemiştir.

Özellikle *bildirimi zorunlu kan dolaşımı enfeksiyonlarının* tanısında etken mikroorganizmaları tanımlama süreçlerinin ayrıntılarına ilişkin (standart uygulama prosedürleri, ilgili besiyerlerinin, ayıraçların hazırlanması, vb.) bilgiler için ise bu rehberin kullanıcılarının UMS2014'e başvurmaları önerilir.

Tanımlar

Kan dolaşımı enfeksiyonu; kanda canlı mikroorganizmaların bulunmasıdır. Tanısı, kan kültürü pozitifliği ile konur. Ancak kan kültüründe üreme saptanması her zaman bir enfeksiyonun varlığını göstermez. Kanda canlı bakteri/bakterilerin bulunması bakteriyemi, mantar/mantarların bulunması fungemi olarak adlandırılır.

Enfektif endokardit veya enfekte intravenöz kateter gibi endovasküler kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonları primer bakteriyemi/fungemi; pnömoni veya apse gibi endovasküler kaynaklı olmayanlar sekonder bakteriyemi/fungemi olarak adlandırılır. Bu sınıflandırma etkene yönelik tedavinin uygulanması, dolayısıyla hastalığın prognozu açısından önemlidir.

Kan dolaşımı enfeksiyonları; epizotların süresine göre *geçici, aralıklı* veya *sürekli* olarak sınıflandırılabilir. Geçici bakteriyemi/fungemi; genellikle ağız içine, gastrointestinal sisteme veya genitoüriner sisteme bir müdahale durumunda gelişir. Kandaki mikroorganizmalar konağın bağışıklık sistemi tarafından kısa sürede temizlenir. Aralıklı bakteriyemi/fungemi, apse veya meningokoksemi, gonokoksemi, pnömoni gibi bazı klinik tabloların varlığında gelişir. Etken mikroorganizma enfeksiyon odağından aralıklarla kan dolaşımına geçer. Sürekli bakteriyemi/fungemide ise intravasküler bir kaynaktan kan dolaşımına sürekli mikroorganizma geçişi vardır. Genellikle enfektif endokarditte görülür. Enfekte intravasküler kateter, septik trombüs ve yabancı cisimlerin üzerinde oluşan biyofilmler sürekli bakteriyemi/fungemiye yol açan diğer nedenlerdir.

Kan dolaşımı enfeksiyonuna neden olan mikroorganizmaların bakteri, mantar veya polimikrobiyal olarak sınıflandırılmaları; enfeksiyon kaynağının saptanması ve tedavi protokollerinin erken uygulanması için önemlidir. Gram-pozitif bakteriyemiye en sık yol açan etkenler *Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus* spp. iken, Gram-negatif bakteriyemiye yol açan en önemli etkenler *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'dır.

Anaerobik bakteriler kan kültürü pozitifliklerinin %1-17'sinden sorumludur. Bu nedenle rutin laboratuvarlarda anaerobik kültür uygulaması önerilmektedir. En sık saptanan anaerobik bakteriler; *Bacteroides, Fusobacterium* türleri, peptostreptokoklar ve *Clostridium* türleridir.

Fungemilerin en sık nedeni maya mantarları olup, sıklıkla *Candida* türleri izole edilir. Fungemi nedeni olarak küf mantarlarının kandan saptanması daha nadirdir. Kan kültüründen izole edilen küf mantarları sıklıkla *Fusarium*, *Acremonium*, *Scedosporium* türleridir.

Bakteriyemiler toplum- veya hastane-kaynaklı olabilirken, fungemiler genellikle hastane-kaynaklıdır.

1) Toplum-kaynaklı bakteriyemiler genellikle *S. pneumoniae*'ye bağlı pnömoni gibi fokal bir enfeksiyon odağından kaynaklanırlar. *S. aureus* gibi bazı bakteriler hastanın mikrobiyotasından kaynaklanabileceği gibi, herhangi bir fokal enfeksiyon bölgesinden kan dolaşımına geçerek sistemik enfeksiyona da yol açabilirler. Enterik ateş ve bruselloz gibi sistemik hastalıklar da toplum-kaynaklı bakteriyemiler içerisinde yer alırlar. Erişkinlerde sık saptanan toplum-kaynaklı bakteriyemi etkenleri şunlardır:
   - *E. coli*
   - *S. pneumoniae*
   - *S. aureus*
   - Diğer Enterobacterales üyeleri
   - *Neisseria meningitidis*
   - Beta-hemolitik streptokoklar
2) Hastane-kaynaklı bakteriyemi/fungemiler; hastaneye yatıştan 72 saat sonra saptanır, sıklıkla hastane ortamında kateterizasyon, bağışıklık sistemini baskılayan tedaviler ve antibiyotik kullanımı ile ilişkilidir. Bu nedenle hastane kaynaklı bakteriyemi/fungemilerin insidansı giderek artmaktadır. İzole edilen mikroorganizma türleri hasta grupları ve hastanede yatış süresine göre değişiklik gösterir. En sık izole edilen mikroorganizmalar:

- Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS)
- *E. coli*
- *S. aureus*
- Diğer Enterobacterales üyeleri
- *P. aeruginosa*
- Enterokoklar
- *Candida* türleri
- Anaerobik bakteriler

Bakteriyemi/fungemiye neden olan klinik tablolar

Bakteriyemi/fungemi ve sepsis kaynağı olarak en sık saptanan sistem ya da bölgeler; solunum, üriner ve gastrointestinal sistemler ile enfekte intravasküler kateterlerdir.

Kateter ile ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları (KİKDE)

İntravasküler kateterler, modern tıp ve cerrahi tedavilerde sık kullanılan araçlardır. Koagülaz negatif stafilokoklar, *S. aureus* ve enterokok türleri gibi Gram-pozitif bakteriler tarafından kolonizasyona ve biyofilm oluşumuna son derece yatkındırlar. Bu nedenle; hastane ortamında çoklu antibiyotik direnci gösteren KİKDE'ye neden olurlar.

Nadiren, intravenöz tedavi sırasında infüzyon hattındaki bir çatlaktan kateter kontamine olarak infüzyon ilişkili bakteriyemiye neden olabilir. Bu durumda genellikle *P. aeruginosa* ve *Enterobacter cloacae* gibi Gram-negatif bakteriler izole edilir.

Mantarlara bağlı KİKDE, enfeksiyon kontrol önlemlerine uyulmaması ve kateter bakımlarının doğru yapılmamasına bağlı olarak görülebilmektedir. En sık görülen etken, sağlık çalışanlarının ellerinde kolonize olabilen *Candida parapsilosis*'tir. Nadiren bazı maya benzeri mantarlar (*Trichosporon, Magnusiomyces, Pichia, Exophiala, Rhodotorula, Saccharomyces* türleri) ve hiyalen küfler (*Fusarium, Sarocladium, Scopulariopsis, Purpureocillium [Paecilomyces], Trichoderma*, *Scedosporium* türleri ve *Lomentospora prolificans,* vb.) de KİKDE'ye yol açabilir.

Kontamine kan ürünlerinin transfüzyonu, total parenteral beslenme solüsyonları veya sıvıların infüzyonu da önemli ve dramatik sonuçları olan bakteriyemi ve fungemi nedenleridir. Örneğin, santral venöz kateterden parenteral lipit tedavisi alan hastalarda *Malassezia furfur* fungemiye neden olabilir.

Son yıllarda bağışıklık yetmezliği olan hastalarda kateter ile ilişkili tüberküloz dışı mikobakteri enfeksiyonlarında artış gözlenmektedir.

Üriner sistem enfeksiyonları

Tüm bakteriyemilerin yaklaşık %17'sinden sorumludur. En sık saptanan etken *E. coli* olup, genellikle yaşlı hastalarda görülmektedir. İdrar kültüründe *Candida* türlerinin üremesi her zaman üriner sistem enfeksiyonu lehine olmasa da bu durumun bazen kandidemilerin ilk belirtisi olabileceği akılda tutulmalıdır.

Alt solunum yolu enfeksiyonları

Bakteriyemilerin yaklaşık %12'sinden sorumludur. En sık saptanan etkenler; *S. pneumoniae, Haemophilus influenzae, S. aureus, P. aeruginosa* ve *Klebsiella (Enterobacter) aerogenes*'dir. Pnömokoksik pnömoni hastalarının %25'inde kan kültürü pozitifliği tespit edilir ve bu hastalarda mortalite yüksektir.

İntraabdominal enfeksiyonlar

Bakteriyemilerin yaklaşık %5'inden sorumludur. Primer peritonit olgularında en sık saptanan etkenler; *E. coli, Klebsiella (Enterobacter) pneumoniae* ve enterokok türleridir. Sekonder peritonit genellikle bağırsak perforasyonu sonucunda gelişir, intraabdominal apse oluşumu ile sonuçlanır ve aralıklı bakteriyemiye neden olur. Etken genellikle *E. coli*, anaerobik bakteriler ve enterokok türleridir.

Nötropenik enterokoliti olan hastaların %14-44'ünde bakteriyemi/fungemi ortaya çıkabilir. En sık görülen mikroorganizmalar *P. aeruginosa,* Enterobacterales üyeleri, *Bacteroides fragilis*, viridans grubu streptokoklar, enterokoklar ve *Candida* türleridir.

Deri enfeksiyonları

S. aureus, Streptococcus pyogenes ve *Streptococcus agalactiae*'ya bağlı selülitler bakteriyemilerin yaklaşık %2'sinden sorumludur. Genellikle polimikrobiyal seyreder.

Enfektif endokardit

Kalp kapakları ve/veya diğer endokard yapılarının enfeksiyonudur. Bakteriler, genellikle geçici bir bakteriyemi sonrası, kardiyak lezyon veya konjenital defekt gibi altta yatan bir bozukluk nedeniyle hasarlanmış kalp kapakları üzerindeki fibrin yapılarına kolonize olarak enfeksiyon oluştururlar. Bakteri ve fibrinden oluşan bu yoğun vejetasyonlar hem mikroorganizmaların nötrofiller tarafından öldürülmelerini hem de antibiyotiklerle tedavi edilmelerini güçleştirir. Sonuçta sürekli bir bakteriyemi ve diğer organ enfeksiyonları gelişir.

Doğal kapak endokarditi

Kronik romatizmal kalp hastalığı, konjenital kalp hastalığı, mitral kapak prolapsusu ve yaşlılarda dejeneratif kapak hastalığı predispozan faktörlerdir. En sık saptanan mikroorganizmalar şunlardır:

- Oral streptokoklar
- Stafilokoklar (yaklaşık %85 *S. aureus*)
- Enterokoklar
- *Streptococcus bovis*
- Kandidalar (*C. parapsilosis* ve *C. albicans* dışı diğer *Candida* türleri): intravenöz ilaç kullanan ve altta yatan ciddi enfeksiyonu olanlar dışında nadirdir; acil tedavi veya cerrahi gerektirirler
- HACEK grubu: *Haemophilus* türleri, *Aggregatibacter* türleri, *Cardiobacterium* türleri, *Eikenella corrodens*, *Kingella* türleri olup genellikle yalnızca endokardit etkenidir.
- *Bartonella* türleri: özellikle HIV pozitif hastalarda endokardit etkeni olabilir.

Protez kapak endokarditi

Protez takılmasını takiben endokardit gelişme riski ilk yıl için %1-5, daha sonraki yıllar için ise yaklaşık %1'dir. Özellikle aort kapağı protezi enfeksiyona yatkındır. Tedavide antimikrobiyal tedavinin yanı sıra cerrahi tedavi gereklidir.

Protez kapak endokarditinin (PKE) nedenleri başlangıç zamanına göre (erken veya geç) ve edinilen duruma göre (toplum kaynaklı ve sağlık bakımı ilişkili) sınıflandırılabilir.

Erken başlangıçlı PKE'de mikroorganizma proteze, operasyon sırasında ya da hemen sonrasında yerleşir. En sık saptanan etkenler *S. aureus* ve KNS'lerdir. Bunu difteroidler, mantarlar,

nozokomiyal anaerobik Gram-negatif basiller izler. Geçmişte toplum kaynaklı geç başlangıçlı enfeksiyonları perioperatif enfeksiyonlardan ayırmak için 60 gün sınırı kabul edilmiştir. Ancak perioperatif dönemde kazanılan ve virülansı düşük olan mikroorganizmalar cerrahiden aylar sonra da ortaya çıkabilir. KNS endokarditi en sık kapak takıldıktan sonraki 60-350. günler arasında görülmektedir. Dolayısıyla erken ve geç başlangıçlı PKE'yi ayırmada referans noktasının bir yıl olmasının daha uygun olacağı ifade edilmektedir.

Geç başlangıçlı PKE genellikle toplum kaynaklı olup cerrahi ve perioperatif dönemle ilişkili değildir. Etkenler doğal kapak endokarditi ile benzerlik gösterir. Sıralama bölgeden bölgeye veya hastaneden hastaneye değişiklik göstermekle birlikte geç PKE'nin en sık nedenleri stafilokoklar, streptokoklar ve enterokoklardır.

Mycobacterium, *Brucella, Bartonella, Legionella*, *Salmonella* türleri, *Coxiella burnetii, Listeria monocytogenes, Tropheryma whipplei,* diğer Gram-negatif bakteriler, *Aspergillus* türleri, *Scopulariopsis, Cryptococcus neoformans* ve *Histoplasma capsulatum* nadiren geç başlangıçlı PKE'ye neden olan mikroorganizmalar olup bunların tanımlanmaları oldukça zordur.

Erken protez kapak endokarditinin mortalite riski geç protez kapak endokarditine göre daha yüksektir. Bunun nedeni, etken mikroorganizmaların sıklıkla hastane kaynaklı ve antibiyotiklere dirençli olmalarıdır.

Neonatal sepsis

Neonatal sepsis; hayatın ilk dört haftası içinde meydana gelir. Düşük doğum ağırlığı veya prematürite gibi altta yatan risk faktörleri, neonatal sepsis insidansını arttıran faktörlerdir.

1) Erken başlangıçlı neonatal sepsis; doğumdan sonraki ilk 72 saat içinde gözlenir. Yenidoğan genellikle, annenin genital sisteminden kaynaklanan veya nadiren plasenta aracılığı ile geçen mikroorganizmalar ile enfekte olur.
2) Geç başlangıçlı neonatal sepsis; doğumu izleyen ilk 72 saatten sonra gözlenir. Enfeksiyon sıklıkla hastane veya ev gibi çevresel ortamlardan kaynaklanır. Sağlık çalışanlarının elleri önemli bir bulaşma yoludur. Mikroorganizmalar deri ve üst solunum yollarına kolonize olduktan sonra sepsis, pnömoni veya menenjit gibi sistemik enfeksiyonlara neden olabilirler.

Kan örneklerinden mikroorganizmaların izole edilmesi, yenidoğanda sistemik bakteriyel enfeksiyon tanısı için altın standart olarak kabul edilir. Yenidoğan sepsisine en sık yol açan mikroorganizmalar şunlardır:

- Beta-hemolitik streptokoklar (özellikle B grubu streptokoklar)
- Enterobacterales üyeleri
- *S. aureus*
- Koagülaz negatif stafilokoklar
- *L. monocytogenes*
- Enterokok türleri
- *Pseudomonas* türleri
- *Candida* türleri
- Anaerobik bakteriler

Çocuklarda kan dolaşımı enfeksiyonu

Çocuklarda bakteriyemiye neden olan enfeksiyonların sıklığı, aşılama programları sayesinde son yıllarda azalma gösterirken, sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonların (SHİE) sıklığında artış izlenmektedir. Bu yaş grubunda en sık izole edilen bakteriyemi etkenleri şunlardır:

- *S. pneumoniae*
- *N. meningitidis*
- *S. aureus*
- *E. coli*
- *Salmonella* türleri

3-36 aylık çocuklarda "gizli" bakteriyemi, toksisite veya fokal enfeksiyon bulgusu olmadan ateş varlığı ile kendini gösterir. *H. influenzae* tip b (Hib) ve konjuge pnömokok aşılarının rutin kullanıma girmesinden sonra, bu bakterilerin etken olma sıklığı azalmıştır. Ancak pnömokok aşısının rutin uygulamaya girmesinden sonra, aşının içermediği serotiplerle gelişen enfeksiyonlar bildirilmektedir. Çocuklarda hastane kaynaklı enfeksiyon etkenleri erişkin hastalardaki etkenlere benzemektedir.

Gebelerde kan dolaşımı enfeksiyonu

Listeria monocytogenes gebelerde bakteriyemi etkeni olabilir. Annenin enfeksiyonu bebekte granülomatozis infantiseptika, ölü doğum veya neonatal menenjite neden olabilir. Şüpheli durumlarda doğum atıklarından, plasentadan ve yeni doğandan tarama kültürleri alınmalıdır.

Bunun dışında; gebelerde ölümle sonuçlanabilen bir diğer önemli enfeksiyon, genellikle anaerobik bakterilerin de dahil olduğu polimikrobiyal bir enfeksiyon olan septik abortustur.

Bağışıklık yetmezliği olan hastalarda kan dolaşımı enfeksiyonu

Bağışıklık yetmezliği olan hastalar, özellikle nötropenik olanlar, enfeksiyon için büyük risk altındadır. Bu hastalarda Gram-negatif bakteriler yüksek mortalite ile seyreden ciddi sepsise neden olurlar.

Bunun dışında, KNS, enterokoklar ve viridans grubu streptokoklar gibi mikrobiyota üyeleri de sıklıkla enfeksiyona neden olur.

Hiposplenik/asplenik hastalarda; *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* gibi kapsüllü bakteriler ve daha az sıklıkta *Capnocytophaga* türleri fulminan sepsise neden olabilirler.

Polimikrobiyal enfeksiyonlar bu grup hastalarda, bağışıklık sistemi sağlam hastalara kıyasla daha sık gözlenir. Ayrıca Gram-pozitifler, *Mycobacterium* türleri ve mantarlar gibi fırsatçı mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların insidansı da bağışıklık sistemi sağlam olanlara göre daha yüksektir.

Bağışıklık yetmezliği olan konakta sıklıkla izole edilen diğer mikroorganizmalar şunlardır:

- Non-fermentatif Gram-negatif basiller
- *L. monocytogenes*
- *Corynebacterium* türleri
- *Candida* türleri

BÖLÜM 2

KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Kan kültürleri, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen en değerli örneklerden biridir. Özellikle hastanede yatan hastalarda morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerinden biri olan bakteriyemi/fungemilerin belirlenmesinde altın standart kan kültürüdür. Laboratuvarda kaliteli kan kültürü sonuçlarının elde edilmesi, preanalitik, analitik ve postanalitik süreçlerin doğru şekilde yönetilmesiyle mümkündür. Bunlar arasında en fazla hata kaynağı, kan örneğinin alınması ve laboratuvara gönderilmesini içeren preanalitik süreçtir. Örnek kalitesinin ve dolayısıyla sonuç kalitesinin arttırılması için preanalitik süreçte görev alan sağlık çalışanlarının eğitimi çok önemlidir. Kan kültürünü alacak olan kişinin ideal kan kültürü seti sayısı, ideal kan miktarı, kan kültürü alınma zamanı ve kontaminasyonu azaltacak önlemler hakkında bilgilendirilmesi mikrobiyoloji uzmanının sorumluluğudur.

Aynı zamanda, doğru endikasyonlar ile uygun miktarda örneğin antisepsi kurallarına uyularak alınması ve laboratuvara doğru bir şekilde taşınmasının sağlanması gibi preanalitik süreçler de tıbbi mikrobiyoloji uzmanının en önemli görevleri arasında bulunmaktadır.

Set kavramı

'Bir kan kültürü seti' ifadesi ile tek bir damar girişimiyle alınan kanın dağıtıldığı kültür şişelerinin tümü kastedilmektedir. Bir **set**, ideal olarak bir aerobik ve bir anaerobik şişeden oluşmalıdır (çocuk hastalar hariç). Sadece aerobik şişe içeren setlere göre, hem aerobik hem anaerobik şişe içeren setlerin kullanılması aşağıdaki avantajları sağlar:

a) Zorunlu anaerobik bakterilerin saptanması,

b) *Streptococcus* türleri, Enterobacterales üyeleri gibi fakültatif anaerobik bakteriler ve *Candida glabrata* üremesinin anaerobik şişede daha hızlı olması

Çocuklarda kültür için alınabilen kan miktarı genellikle az olduğu için, kan örneğinin aerobik ve anaerobik şişelere bölünmesi, şişe başına düşen kan miktarının yetersiz kalmasına yol açabilir.

- Çocuklarda anaerobik bakteriyemi sıklığı, yetişkinlere kıyasla daha düşüktür ve anaerobik sepsis gelişimi açısından risk faktörü taşıyan hastalar (karın içi patolojisi olanlar, vb.) kolaylıkla ayırt edilebilmektedir. Bu nedenle daha önceden sağlıklı olan çocuk hastalarda rutinde anaerobik şişe kullanılmasına gerek yoktur.

Önerilen kan kültürü seti sayısı

Hastanın klinik durumuna, şüphelenilen enfeksiyona ve tedavinin aciliyetine göre, alınması gereken ideal kan kültürü seti sayısı değişebilir. Tek kan kültürü seti yeterli değildir ve yenidoğan dönemi hariç önerilmez (**Tablo 1**). Kan kültüründe ürediğinde kesin olarak etken kabul edilen bir patojen (*Salmonella* türleri, *Brucella* türleri, vb.) izole edilmedikçe, tek bir pozitif kültür sonucunun yorumlanması zordur. Tek kan kültürü şişesi, KNS, Gram-pozitif basiller ve küf mantarları gibi olası kontaminantların gerçek bakteriyemi/fungemi etkenlerinden ayırt edilmesini de sağlayamaz.

Tablo 1. Klinik durumlara göre alınması önerilen kan kültürü seti sayısı

Klinik durum	Kan kültürü seti sayısı	Öneriler
Akut bakteriyemi/fungemi şüphesi	2 set	İki set farklı damardan peş peşe alınır
Menenjit, osteomiyelit, artrit, pnömoni, abdominal sepsis ve bakteriyemi olasılığı düşük/orta düzeyde olan diğer klinik durumlar	2 - 3 set	Üç set farklı damardan peş peşe alınır VEYA İki set farklı damardan peş peşe alınır, 4-6 saat sonra üçüncü set alınır
Subakut bakteriyel endokardit, sebebi bilinmeyen ateş veya sürekli bakteriyemi/fungemi olan diğer klinik durumlarda (kateter ilişkili sepsis, septik trombofilebit, vb.)	4 set	24 saat içinde dört set kan kültürü alınır: İki veya üç set farklı damarlardan peş peşe alınır, 24 saat sonra üreme yoksa bir set veya farklı damarlardan peş peşe iki set daha alınır

Bakteriyemi/fungemi şüphesine rağmen kan kültüründe üreme saptan**ma**ması durumunda mikobakteri, mantar ve nadir/güç üreyen mikroorganizmalar için alternatif yöntemler (kültür, seroloji, moleküler, vb.) denenir.

Hastadan kan alınabilecek tek alan varsa; **bir set** kan kültürü alındıktan sonra en az **10 dakika** beklenir. Cilt antisepsisi tekrarlanarak aynı damardan ikinci set alınır.

Tablo 1'de sözü edilen hasta gruplarında, hastanın klinik durumunda ya da şüphelenilen enfeksiyonda bir değişiklik olmadıkça ilave kan kültürleri nadiren faydalıdır. Üstelik şişe sayısı arttıkça kontaminantlara bağlı yanlış pozitiflik olasılığı ve iyatrojenik anemi riski de artmaktadır. Bu nedenle, özel bir gereklilik olmadıkça aynı septik epizotta ikiden fazla kan kültürü seti alınması önerilmez.

Klinik değeri çok düşük olduğu için, yoğun bakım ünitesinde yatanlar, organ nakli hastaları, vasküler kateteri olan hastalar da dâhil olmak üzere, hiçbir hasta grubunda sepsisin erken saptanması amacıyla sürveyans kan kültürleri önerilmez.

Enfektif endokardit, S. aureus bakteriyemisi ve kandidemi dışında takip amacıyla kan kültürü alınmasına gerek yoktur, klinik takip yeterlidir.

Kandidemi durumunda tedavi başlandıktan sonra gün aşırı kan kültürleri alınmalıdır. İlk negatif kültür saptandıktan sonra, kan kültürü alınmadan iki hafta daha antifungal tedaviye devam edilmelidir. İki haftanın sonunda klinik endikasyon yoksa kontrol kan kültürü alınmasına gerek yoktur.

Yenidoğanlarda yeterli hacimde (en az 1 mL) kan inoküle edilmiş tek kan kültürü alınması yeterlidir. Set sayısının arttırılması etken izolasyon olasılığını arttır**ma**maktadır. Bunun yerine tek şişeye yeterli hacimde kan inokülasyonu çok daha önemlidir.

Alınacak kan miktarı

Erişkin hastalar

Erişkinlerde her kan kültürü seti için alınması gereken optimal kan hacmi 20-30 mL'dir.

Alınan kan hacmi etken mikroorganizmanın saptanmasını etkileyen en önemli faktördür.

Kan kültürü için alınan kan miktarı ile etken mikroorganizmanın saptanması arasında doğrusal bir ilişki vardır. Alınan kan miktarında her bir mililitrelik artış, kan kültürü şişesine konulacak optimal miktarı aşmamak koşuluyla, etken mikroorganizma saptanma olasılığını %3 oranında arttırmaktadır. Kan kültürü şişesine aktarılan kan miktarının yetersiz ya da gereğinden fazla olması durumunda yalancı negatif sonuçlar elde edilebilir.

Alınan kan hacmi ideale yakın miktara yaklaştıkça etkenin izole edilme olasılığı artar, kontaminasyon sıklığı azalır ve kültürün pozitifleşme süresi kısalır.

Çocuk hastalar

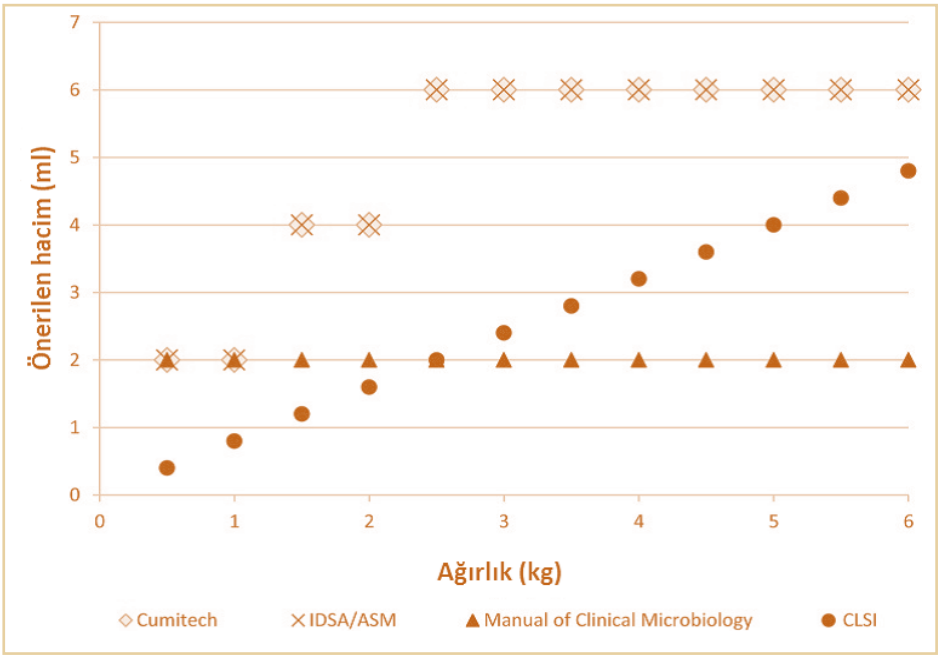
Çocuklarda düşük düzey bakteriyemi (≤10cfu/mL) sıklığı, tahmin edilenden çok daha yüksektir (%38-68). Düşük mikroorganizma yükünün saptanabilmesi için en az 2 mL kan alınmalıdır. Bu nedenle, çocuk hastalarda da hastanın kilosu ve toplam kan hacmi göz önünde bulundurularak, alınabilecek en yüksek kan hacmi ile kan kültürünün yapılması önemlidir. Hasta güvenliğini tehlikeye atmadan bir seferde alınabilecek kan hacmi, hastanın toplam kan hacminin %4-5'i olmalıdır. Çocuk hastalarda, kültür için alınan kan miktarı hastanın toplam kan hacminin %1'inden az olmamalıdır (**Tablo 2, Şekil 1**).

Tablo 2. Çocuk hastalardan alınması gereken kan hacmi

Hastanın ağırlığı (kg)	Hastanın toplam kan hacmi (mL)*	Her kültür için alınması önerilen kan hacmi (mL)		Kültür için alınan toplam kan hacmi (mL)	Kültür için alınan toplam kan hacminin hastanın toplam kan hacmine oranı (%)
		1. kültür	2. kültür		
≤ 1	50-99	2 mL/1 PED şişe	-	2	4
1.1-2	100-200	2 mL/1 PED şişe	2 mL/1 PED şişe	4	4
2.1-12.7	200-800	3 mL/1 PED şişe	3 mL/1 PED şişe	6	3
12.8-36.3	800-2200	10 mL/1 STD şişe	10 mL/1 STD şişe	20	2.5

Kısaltmalar - PED, pediyatrik; STD, standart

* Kan hacmi 80 mL/kg olarak hesaplanmıştır.



Şekil 1. Çocuk hastalar için farklı rehberlerde kiloya göre alınması önerilen kan hacmi

Kanın şişelere dağıtılma sırası

Kelebek kan alma seti kullanılıyorsa, aparatın içindeki havanın anaerobik şişeye aktarılmasını önlemek için kan ilk olarak aerobik şişeye inoküle edilmelidir. Kan almak için "vacutainer" veya enjektör kullanılıyorsa, şişeye hava girişini önlemek için ilk olarak anaerobik şişeye inokülasyon gerçekleştirilmelidir.

Hastada anaerobik enfeksiyon olasılığı yüksekse (diyabetik hasta, karın içi ya da jinekolojik enfeksiyon riski, derin yara enfeksiyonu, nötropeni varlığı, vb.) önce anaerobik şişeye ekim yapılmalıdır. Kan yeterli miktarda alınamazsa ve anaerobik enfeksiyon düşündürecek bir klinik durum söz konusu değilse; bakteriyemi etkenlerinin çoğunlukla, aerobik şişede üreyen aerobik ve fakültatif anaerobik bakteriler olması nedeniyle öncelikle aerobik şişeye ideal miktarda kan konulmalı, kalan kan anaerobik şişeye eklenmelidir.

Kan kültürü alınma zamanı

Kanda mikroorganizma konsantrasyonunun en yüksek olduğu dönem ateş çıkmasından önceki 30-60 dakikalık dönemdir. Bununla birlikte, birçok hastada bu dönemin öngörülmesi her zaman mümkün olamayacağından, ateş yükselmeye başladıktan sonra en kısa sürede kan kültürü alınmalıdır. Kan kültürleri, antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır.

Özellikle bağışıklık yetmezliği olan ve/veya geriatrik yaş grubu gibi ateş yanıtının saptanamayabileceği hastalarda, klinisyenin öngörüsü dikkate alınarak antibiyotik tedavisi başlanmadan önce, ateş yükselmesi beklenmeksizin 2-3 set kan kültürü alınabilir.

Sepsis, osteomiyelit, menenjit, pnömoni ve piyelonefrit gibi acil tedavi başlanması gereken durumlarda, tedaviye başlanmadan önce iki ayrı venden peş peşe, maksimum hacimde iki kan kültürü seti alınmalıdır. Gerekli görüldüğü takdirde 30-60 dakika sonra üçüncü bir kan kültürü seti daha alınabilir.

Subakut bakteriyel endokardit, sebebi bilinmeyen ateş veya sürekli bakteriyemi/fungemi olan diğer klinik durumlarda (kateter ilişkili sepsis, septik trombofilebit, vb.) 24 saat içinde maksimum hacimde dört set kan kültürü alınması önerilir (**Tablo 1**).

Antibiyotik tedavisi altındaki hastalarda kan kültürü, kanda antibiyotik konsantrasyonunun en düşük olduğu dönemde (bir sonraki antibiyotik dozundan hemen önce) alınmalıdır. Antibiyotik tedavisi başlanan hastada, tedavi öncesinde yeterli hacimde en az iki set kan kültürü alındıysa, aynı ateşli dönemde tekrar kan kültürü alınmasına gerek yoktur.

Pediyatrik şişelerin antibiyotikleri inaktive etmedeki başarısı standart şişelerden daha düşüktür, ayrıca bu konuda otomatize sistemler arasında da farklar vardır.

Kan kültürü örneklerinin peş peşe alınması ile 24 saat içinde aralıklarla alınması arasında bir fark yoktur. Akut hastalığı olan veya sürekli bakteriyemi olasılığı yüksek olan hastalarda kan kültürlerinin iki ayrı damardan peş peşe alınması yeterlidir.

Otomatize kan kültürü sistemlerinde, kan kültürünün alınma zamanından ziyade alınan kan miktarı, etken mikroorganizmanın saptanmasında çok daha önemlidir.

Kan kültürü almadan önce unutmayınız!

- Kan kültürü sadece klinik gereksinim olduğunda alınmalıdır.
- Sürveyans amaçlı kan kültürü alın**ma**malıdır.
- Kan kültürleri, antibiyotik veril**me**den önce alınmalıdır.
- Hasta antibiyotik kullanıyorsa en uygun zaman, bir sonraki dozdan hemen öncedir.
- Kan kültürü alınırken kişisel koruyucu önlemler alınmalıdır.
- İşlem süresince asepsi/antisepsi kurallarına uyulmalıdır.
- Özel bir gereklilik olmadığı sürece, kan alımı venöz damardan yapılmalıdır. Arteriyel kan kültürlerinin, venöz kan kültürlerine bir üstünlüğü yoktur.
- Kan kültürleri, kateter ve kanüllerden alın**ma**malıdır (KİKDE tanısı hariç). İntravenöz kateter ve portlardan alınan kan kültürleri, venöz damardan alınan kan kültürlerine göre daha fazla kontamine olmaktadır.
- KİKDE düşünülüyorsa, kateterden alınan kültürler **mutlaka** periferik bir venden alınan kan kültürü ile eşleştirilmelidir.
- Kateterden kan alınırken ilk gelen kanı atmak veya öncesinde steril SF ile kateteri yıkamak **gerekmez.**
- Alınan kan; kan sayımı, seroloji, hormon tayini gibi diğer testler için de kullanılacaksa, önce kan kültürü şişelerine ideal hacimde inoküle edilmelidir.
- Kan kültürü şişeleri **oda sıcaklığında** saklanmalı ve taşınmalıdır. Örnek alınmadan önce veya sonra kan kültürü şişeleri **asla** buzdolabına kon**ma**malıdır.

Kan kültürü alma işlemi

Hazırlık

Kan kültürü alma işlemini kolaylaştırmak amacıyla aşağıda belirtilen malzemelerin tamamını alabilecek bir işlem tepsisi hazırlanması önerilir. Bu tepsi periyodik olarak yüzey dezenfektanı ile temizlenmelidir.

Malzemeler

1. Turnike
2. Steril gazlı bez
3. Antiseptik solüsyon(lar)
4. Tek kullanımlık steril olmayan eldiven
5. Bir çift steril eldiven
6. 20 mL'lik iki adet enjektör/"vacutainer"/kelebek kan alma seti
7. Kan kültürü şişeleri (ihtiyaca göre; aerobik, anaerobik, mikotik, pediyatrik)
8. Kesici-delici tıbbi atık kutusu

Örneklerin alınması

1. Hastanın kimliğini doğrulayın.
2. İşlem hakkında hasta veya yakınını bilgilendirin.
3. Kan kültürü şişelerini kontrol edin:
   - Son kullanma tarihi
   - Fiziksel hasar (çatlak, kırık, eksik kapak, vb.)
   - Şişe içeriği (bulanıklık, eksik hacim, vb.)
4. Kan kültürü şişelerini hazırlayın:
   - Hastanın adını ve soyadını yazın.
   - Örneğin alındığı tarih ve saati yazın.
   - Örneğin alındığı bölgeyi belirtin (sağ kol/sol kol, kateter/perifer, vb.).
   - Şişenin kendi barkodunu kapatmayacak şekilde istem barkodunu yapıştırın.
   - Kimliğinizi yazın (isim baş harfleri, kurum no/kod, vb).
   - Alınması hedeflenen kan miktarını şişe üzerinde işaretleyin.
5. İşlem tepsinizi hazırlayın.
6. Ellerinizi sabun ve suyla yıkayın/el antisepsisi sağlayın.
7. Tek kullanımlık steril olmayan eldiven giyin.
8. Turnikeyi bağlayın. Kan alınacak damarı belirleyin. Turnikeyi gevşetin.
9. Kan alınacak bölgenin cilt antisepsisini sağlayın:

Erişkinlerde

- Seçilen bölgeyi %70 izopropil alkollü steril gazlı bez ile kuvvetlice ileri geri sürterek en az 30 saniye boyunca silin.
- 30 saniye kurumasını bekleyin.
- %1-2 iyot tentürü veya %10 povidon iyodin veya %2 klorheksidin glukonatlı steril gazlı bez ile merkezden dışa doğru eşmerkezli halkalar çizerek cildi silin.
- İyot tentürü ve povidon iyodin için 1-2 dakika; klorheksidin glukonat için 1 dakika etki etmesini bekleyin.

Kan alma işlemi her zaman yakından izlenmelidir!

- Vakumlu sistemlere uygun kan alma setleri kullanılıyorsa, şişe içeriğinin geri gelmemesi için, kan alma işlemi boyunca şişeler dik konumda tutulmalıdır.
- Örnek alma ve şişelere inokülasyon işlemleri arasında enjektörün iğnesi değiştiril**me**melidir.
- İğne damardan çıkartılırken steril olmayan malzeme ile kanama kontrolü için damar üzerine basınç uygulan**ma**malıdır.
- Doğru örnek alımını sağlamak için **Ek 2**'de verilen kontrol listesini kullanabilirsiniz.

Yenidoğan ve çocuklarda

- Seçilen bölgeyi %70 izopropil alkollü steril gazlı bez ile kuvvetlice ileri geri sürterek en az 30 saniye boyunca silin.
- 30 saniye kurumasını bekleyin.
- Tekrar %70 izopropil alkol ile merkezden dışa doğru eşmerkezli halkalar çizerek cildi silin.
- 30 saniye kurumasını bekleyin.

10. Beklerken kan kültürü şişelerinin üst kapaklarını çıkartın. Kan kültürü şişelerinin lastiği steril değildir. Bu nedenle, dezenfekte etmek için lastik tıpayı %70'lik alkol veya %2 klorheksidin glukonat ile silin, sildiğiniz gazlı bezi şişenin üstünde bırakın (NOT: İyotlu solüsyonlar kesinlikle kullanıl**ma**malıdır!)
11. 20 mL'lik 2 adet enjektör/"vacutainer"/kelebek kan alma setini hazırlayın.
12. Eldiveninizi çıkartın. Tıbbi atık kabına atın.
13. Turnikeyi sıkın.
14. Tekrar el hijyeni sağlayın.
15. Steril eldiven giyin.
16. Mümkün olduğunca hazırlanan alana tekrar dokunmayın.
17. Uygun hacimde kan alın (*bkz.* **Tablo 2**). (NOT: kelebek kan alma seti/"vacutainer" kullanılıyorsa, işaretlenen seviyeye kadar kan alınmasına dikkat edilmelidir!)
18. Turnikeyi gevşetin, enjektör/kelebek kan alma setini damardan çıkartın, varsa emniyet mekanizmasını etkinleştirin.
19. Kanamayı kontrol altına almak için enjeksiyon bölgesine kuru steril gazlı bez ile basınç uygulayın.
20. Kan alma setini, kesici-delici tıbbi atık kutusuna atın.
21. Kanı şişelere dağıtın (*bkz.* **Tablo 2**). Başka test tüplerine de kan alınacaksa, önce kan kültürü şişelerine kanı aktarın.
22. Kanın pıhtılaşmasını engellemek için şişeleri birkaç kere nazikçe alt-üst edin.
23. İyotlu antiseptik kullandıysanız, hastanın cildini %70 alkolle silerek antiseptiği uzaklaştırın.
24. Şişeleri laboratuvara en geç iki saat içinde, pnömatik tüp sistemi veya taşıyıcı elemanlarla, kapalı sistemler kullanarak ulaştırın.

Kan kültürü şişesine alınabilen diğer örnekler

Çalışmalar, kan dışındaki steril vücut sıvılarının (beyin omurilik sıvısı, amniyotik sıvı, bursa sıvısı, sinoviyal sıvı [eklem sıvısı], perikardiyal sıvı, plevral sıvı, periton sıvısı [asit], periton diyaliz sıvısı örnekleri, vb.), kan kültürü şişelerine inokülasyonunun, geleneksel plak ekimine kıyasla etken izolasyonunu arttırdığını göstermiştir. Bu şişelerin diğer avantajları; daha zengin besiyeri içeriyor olması, antibiyotik bağlayıcı özellikleri ve plağa inoküle edilenden daha fazla örnek eklenebilmesidir.

Steril örnekler için kan kültürü şişeleri kullanılıyorsa, şişelere ideal olarak "hasta başında" santrifüj edil**me**miş örneklerden inokülasyon yapılması önerilir. Steril bölgelerden alınan örneklerde, kan kültürü şişelerinin kullanılması, etken mikroorganizmanın izolasyonunu arttırmakla birlikte kontaminasyonun da artışına neden olabilir. Bu örneklerin alımında kontaminasyonun engellenmesi amacıyla, kan kültürü alınması sırasında uygulanan aseptik teknikler kullanılmalıdır.

Steril vücut sıvılarının kan kültürü şişesine alınması durumunda laboratuvara bu şişelerle birlikte; Gram boyama, hücre sayımı ve diğer ekimler için ayrıca steril tüpte örnek de mutlaka gönderilmelidir (ayrıca *bkz.* KLİMUD, Steril Vücut Sıvıları Laboratuvar İnceleme Rehberi).

Sinoviyal sıvı ve amniyon sıvısı kültürü için kan kültürü şişelerinin kullanılması özellikle önerilir. Yapılan çalışmalarda rutin kültürlerde negatif olan eklem sıvılarının %21-40'ının, kan kültürü şişelerinde pozitif olduğu ve üreme süresinin kısaldığı bildirilmiştir.

Steril vücut sıvılarının kültürü için kan kültürü sistemlerini kullanmanın bir diğer avantajı da, bu örneklerin işlenmesi ve yorumlanmasıyla ilişkili maliyetleri düşürmesidir.

Standart kan kültürlerinde *Neisseria gonorrhoeae* gibi güç üreyen mikroorganizmaların üretilmesinde, kültür şişelerine eklenen kanın kendisi, gerekli besinlerin bir kısmını sağlar. Ancak, kan dışındaki vücut sıvılarının kan kültürü şişelerine ekilmesi halinde *N. gonorrhoeae* ve benzeri güç üreyen mikroorganizmaların üremesi desteklenemeyebilir.

Periton sıvısı kültürü için kan kültürü şişelerinin rutin kullanımı konusunda tartışmalar devam etmektedir. Bu örneklerde polimikrobiyal enfeksiyonlar sıktır. Bu nedenle pozitif sinyal veren şişelerden seçici ve seçici olmayan, aerobik ve anaerobik besiyerlerine birden fazla organizmanın izolasyonu için pasaj yapılması hem zordur hem de maliyeti yüksektir. Oysa, şüpheli peritonit vakalarında genellikle aerobik ve anaerobik enfeksiyonlara yönelik geniş spektrumlu antimikrobiyallerle ampirik tedavi başlanır. Bu nedenle Gram boyama sonucuna göre olası patojenlerin bildirilmesi yeterlidir. Potansiyel patojenlerin her birinin tür düzeyinde tanımlanması gerekli değildir.

Kan kültürlerinde kontaminasyonun önlenmesi

Serratia türleri klorheksidine doğal dirençlidir.

Bazı KNS'lerde de klorheksidin duyarlılığında azalma bildirilmiştir.

Kontaminasyon, kanda organizma olmadığı halde kültürde üreme olması durumudur. Kontaminasyonun en önemli nedeni, cilt florasında bulunan mikroorganizmaların kan kültürü şişelerine inokülasyonudur. Bunun dışında hastane ortamı, kanı alan personelin elleri, kan kültürü alımında kullanılan ekipmanlar ve kateter varlığında kateteri kolonize eden mikroorganizmalar kontaminasyon kaynağı olabilir.

Deri mikrobiyotası üyeleri enfektif endokardit gibi sistemik hastalıkların etkeni de olabildiğinden, kan kültüründe üremeleri durumunda etken/ kontaminasyon ayırımını yapmak zordur. Ayrıca, kontaminant bakteriler nedeniyle gerçek etken olan bakterilerin üremesi inhibe olabilir. Hastanelerde kan kültürü kontaminasyon oranları %3'ün altında tutulmalıdır. Kontaminasyona yol açan hatalar sıklıkla preanalitik süreçte meydana gelir. Kontaminasyonun önlenmesinde en önemli faktörler, etkin cilt antisepsisi yapılması ve mevcut intravenöz kateterlerden kan kültürü alın**ma**mas-ıdır. Preanalitik süreçte kontaminasyonu arttıran hataların listesi **Tablo 3**'te yer almaktadır.

Tablo 3. Preanalitik süreçte kontaminasyonu arttıran hatalar

Hata	Nedenler
Yetersiz cilt antisepsisi	Antiseptik temas süresinin yetersizliği Antiseptik uygulandıktan sonra kan alınacak bölgeye dokunulması
Kültür şişesinin doğru hazırlan**ma**ması	Plastik kapağın dezenfekte edil**me**mesi
Enjektör iğnesinin değiştirilmesi	İşlem sayısının artmasına bağlı kontaminasyon
Damar içi kateterlerden kan alınması	Kolonizan mikroorganizmaların inokülasyonu

Kan kültürü almak için özel olarak eğitilmiş ekiplerin kurulması **kontaminasyon oranlarını düşürmede en etkili uygulamadır**. Bu ekipleri oluşturmanın maliyeti, kontaminasyona bağlı artan işlem ve gereksiz antibiyotik kullanımının neden olduğu maliyetten daha düşüktür.

İnokülasyon için enjektör iğnesinin ucunun değiştirilmesi kontaminasyonu azalt**ma**dığı gibi kesici-delici alet yaralanması riskini yaklaşık %42 arttırır!

Antisepsi amacıyla kullanılan alkol bazlı ürünler, kan kültürü kontaminasyon oranlarının düşürülmesinde su bazlı ürünlerden üstündür. Alkol bazlı antiseptikler daha hızlı kurudukları için daha hızlı etki ederler. Klorheksidin glukonat; renksiz olması, alerjik reaksiyon yap**ma**ması ve kan alındıktan sonra temizlenmesine gerek ol**ma**ması gibi avantajlara sahiptir. Ancak, iki aydan küçük bebeklerde aşırı cilt tahrişine ve kimyasal yanıklara neden olabileceğinden kullanılmaz. İki aydan küçük bebeklerde önerilen antiseptik %70'lik etil alkoldür. Cilt antisepsisinde kullanılabilecek antiseptik solüsyonlar ve uygulama şekilleri **Tablo 4**'te verilmiştir.

Tablo 4. Cilt antisepsisinde kullanılan antiseptik solüsyonlar ve uygulama şekilleri

Uygulama sırası	Antiseptik solüsyon	Uygulama süresi	Uygulama şekli	Açıklama
1. Basamak	%70 izopropil alkol	30 saniye	Kuvvetlice ileri geri sürtme ile uygulanır	Deri mikrobiyotasında bulunan bakterilerin yaklaşık %20'si derinin daha derin katmanlarında yaşamaktadır. Ölü deri hücreleri, ter bezleri ve kıl folikülleri derinin yeterince temizlenmesini zorlaştırır. İleri geri kuvvetle sürtme, derin cilt tabakalarını daha iyi temizler, üst tabakanın bakteri yükünü daha etkili bir şekilde azaltır.
2. Basamak (bu üç antiseptikten sadece biri seçilip uygulanmalıdır)	%2 klorheksidin glukonat	1 dakika	Merkezden dışa doğru eşmerkezli (dairesel) halkalar çizerek uygulanır	Dairesel uygulama, önceden temizlenmiş alana mikroorganizmaların yeniden girmesini önler.
	%1-2 iyot tentürü	1-2 dakika		
	%10 povidon iyodin	1-2 dakika		

Şişelerin plastik tıpalarının temizliğinde %70 izopropil alkol veya %2 klorheksidin glukonat kullanılmalıdır. İnkübasyon sırasında kapakta aşınmaya ve kontaminasyon riskinde artmaya neden olduğundan plastik tıpa temizliğinde iyot kullanıl**ma**malıdır.

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

BÖLÜM 3

KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNİN TAŞINMASI VE SAKLANMASI, KABUL/RET ÖLÇÜTLERİ

Kan kültürü isteminde verilen bilgiler mümkün olduğunca eksiksiz olmalı, kültür şişeleri mümkün olan en hızlı ve en doğru şekilde tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmalıdır.

Kan kültürü isteminde bulunması gereken bilgiler

- Hastanın adı, soyadı
- Doğum tarihi, cinsiyeti
- Dosya (kayıt) numarası
- Örnek numarası
- Örneğin gönderildiği birim
- Örneğin alınma tarihi ve saati
- Örneğin alındığı bölge (sağ kol/sol kol, kateter/perifer, vb.)
- Hastanın tanısı/ön tanısı/ön tanıları, altta yatan hastalığı/hastalıkları, ateş varlığı
- Kullandığı antimikrobiyal ilaç(lar)
- Örneği alan kişinin kimliği (isim baş harfleri, kurum numarası/kodu, vb.)
- Sorumlu hekimin adı, soyadı

Her bir kan kültürü şişesi üzerinde bulunması gereken bilgiler

- Hastanın adı, soyadı
- Örneğin alınma tarihi ve saati
- Örneğin alındığı bölge (sağ kol/sol kol, kateter/perifer, vb.)
- Örneğin barkod numarası
- Örneği alan kişinin kimliği (isim baş harfleri, kurum numarası/kodu, vb.)

Kan kültürlerinin laboratuvara ulaştırılması sırasında uyulması gereken kurallar

- Şişeler, kan alındıktan sonra **en geç iki saat** içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Bu sürenin aşılması durumunda şişelerin kan kültürü sistemlerine yerleştirilmesi gecikeceğinden etken üremesi gecikebilir veya tamamen engellenebilir.

- Taşıma süresince kan kültürü şişeleri **oda sıcaklığında** tutulmalıdır. Kan kültürü şişelerinin buzdolabına konması veya dondurulması mikroorganizmaların ölmesine neden olabileceği gibi şişe içeriğinin donması sonucu şişelerin kırılmasına yol açabilir.
- Şişelerin laboratuvara transferi sırasında düşme veya birbirine çarpma sonucu kırılmayacağı bir yöntem kullanılmalıdır. Şişeler kısa mesafelerde dahi elle taşın**ma**malı, mutlaka taşıma kabına konmalıdır.
- Pnömatik sistem kullanılıyorsa, kan kültürü şişelerini gönderirken üretici firma kurallarına uyulmalıdır.

Bartonella türleri, *Legionella* türleri, filamentöz ve dimorfik mantar enfeksiyonu şüphesi olan hastalarda standart kan kültürlerinde üreme tespit edile**me**yebilir.

Bu mikroorganizmaların tespiti için **en uygunu lizis santrifügasyon sistemi** olup en geç sekiz saat içinde örneklerin işlenmesini gerektirir.

Kan kültürlerinin laboratuvara kabulü

Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına ulaşan tüm örnekler, örnek kabul biriminde görevli laboratuvar çalışanları tarafından uygunluğu yönünden incelenir. Şişeler inkübatöre yerleştirilmeden önce üreme göstergeleri (gaz kabarcığı, çökelti, hemoliz, renk indikatörlerinde değişiklik, vb.) açısından kontrol edilmelidir (**Tablo 5**). Üreme göstergesi tespit edilen şişeler cihaza yerleştirilmeden önce hızla işleme alınmalıdır.

Tablo 5. Kan kültürü şişelerinde üreme olduğunu gösteren makroskopik bulgular

Makroskopik değerlendirme	Olası mikroorganizmalar
Hemoliz	Streptokoklar, stafilokoklar, *Listeria* türleri, *Clostridium* türleri, *Bacillus* türleri
Bulanıklık	Aerobik Gram-negatif bakteriler, stafilokoklar, *Bacteroides* türleri
Gaz oluşumu	Aerobik Gram-negatif basiller, anaerobik bakteriler
Çökelti oluşumu	*Pseudomonas* türleri, *Bacillus* türleri, mayalar
Pıhtılaşma	*S. aureus*
Gözle görünür koloniler	Stafilokoklar, streptokoklar

Reddedilen kan kültürleri **mutlaka** en kısa sürede hastadan sorumlu hekime/hemşireye bildirilerek vakit kaybı olmadan hastadan **yeni örnek alınıp gönderilmesi** sağlanmalıdır!

Kan kültürü ret ölçütleri

Kan kültürü, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarının en değerli örneklerinden biri olup kültür sonuçları hastanın sağ kalımı açısından kritik önem taşıdığından, zorunlu olmadıkça örnek reddi yapıl**ma**malıdır.

1) Aşağıdaki durumlarda önce ilgili klinik aranarak bilgi verilir, yeni örnek gönderilmesi istenerek örnek reddedilir:
   - Etiketsiz/hatalı etiketlenmiş (hasta adı-soyadı, örnek no, vb.) şişeler

- Şişe üstündeki hasta bilgileri ile istem formunda yer alan bilgiler arasında uyumsuzluk
- Kırık/çatlak/sızdıran şişeler
- Aşırı doldurulmuş şişeler (inkübasyon esnasında üremeye bağlı iç basınç artışı sonucu patlama/kırılmaya neden olabileceği gibi uygun kan/besiyeri oranının sağlanamaması nedeniyle yalancı negatif sonuçların alınmasına da neden olabilir)
- Kan kültürü şişesinde gönderilmeyen kan örnekleri

2) **Tablo 6**'da belirtilen durumlarda ise örnek kabul edilir ve işleme alınır. Ancak örneğin gönderildiği servis aranarak durum bildirilmeli, gerekirse yeni örnek istenmeli, düzeltici-önleyici faaliyet başlatılmalıdır. Sonuç raporuna, uygunsuz durum ve sonuca etkisini açıklayan bilgi notu **mutlaka** eklenmelidir.

Tablo 6. Düzeltici-önleyici faaliyet başlatılması gereken uygunsuz kan kültürü istemleri

Uygunsuzluk	Yapılan işlem	Sonuç raporuna yazılacak uygunsuz durum ve sonuca etkisini açıklayan bilgi notu örnekleri
Üzerine kan bulaşmış fakat sızdırmayan kan kültürü şişeleri	Şişelerin üstü dezenfektan ile silinip işleme alınır	Hasta sonuç raporuna herhangi bir şey yazılmaz. İlgili bölüm/sorumlu hekim uyarılır.
Son kullanma tarihi geçmiş kan kültürü şişesinde örnek gönderilmesi	Örnek işleme alınır	Hasta sonuç raporuna: "Örnek, son kullanma tarihi geçmiş şişeye alınarak laboratuvara gönderilmiştir. Sonuçlar güvenilir değildir." ifadesi eklenir.
Kan kültürü şişesine alınan kan miktarının az olması	Örnek işleme alınır	Üreme olmaması durumunda hasta sonuç raporuna: "Örnek yetersiz hacimde laboratuvara gönderilmiştir. Yalancı negatif sonuç olabilir." ifadesi eklenir.
Kan kültürü şişesine alınan kan miktarının fazla olması	Örnek işleme alınır	Üreme olmaması durumunda hasta sonuç raporuna: "Örnek fazla hacimde laboratuvara gönderilmiştir. Yalancı negatif sonuç olabilir." ifadesi eklenir.
Tek şişe/tek set kan kültürü gönderilmesi	Örnek işleme alınır	Üreme olmaması durumunda hasta sonuç raporuna: "Tek şişe/tek set kan örneği gönderilmiştir. Yalancı negatif sonuç olabilir. En az iki set kan kültürü gönderilmelidir"; Olası kontaminant üremesi halinde hasta sonuç raporuna: "Tek şişe/set kan örneği gönderilmiştir. Etken/kontaminant ayrımı yapılamaz. En az iki set kan kültürü gönderilmelidir." ifadesi eklenir.
Aynı hasta için 24 saat içinde önerilenden fazla sayıda kan kültürü seti gönderilmesi	Örnek işleme alınır	Hasta sonuç raporuna herhangi bir şey yazılmaz. Sorumlu hekim aranarak, önerilenin üzerinde set alınmasının kültür pozitiflik oranını arttırmayacağı gibi iyatrojenik anemiye yol açabileceği açıklanır.
Örnek alımının üzerinden iki saatten fazla süre geçmiş şişe gönderilmesi	Üreme göstergeleri açısından kontrol edilerek örnek işleme alınır	Üreme olmaması durumunda hasta sonuç raporuna: "Teslim süresi gecikmiş örnek. Yalancı negatif sonuç olabilir" ifadesi eklenir.

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

BÖLÜM 4

KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNİN İŞLENMESİ VE İŞ AKIŞI

Günümüzde, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygın olarak, kan kültürü şişelerinin üreme açısından kesintisiz olarak takip edilebildiği otomatize kan kültürü sistemleri kullanılmaktadır. Bu sistemlerin kullanımı sayesinde hem inkübasyon süresi kısalmakta hem de kontaminasyon oranları azalmaktadır.

Kan kültürü şişeleri cihaza yüklendikten sonra pozitif sinyal verme süresi; alınan kan miktarına, kandaki mikroorganizma yüküne ve etken mikroorganizmanın üreme hızına bağlı olarak değişmektedir. Otomatize kan kültürü sistemlerinde standart inkübasyon süresi **beş gündür**. Kan dolaşımı enfeksiyonu klinik bulgularına sahip olduğu ve uygun sayı/hacim/kombinasyona (aerobik, anaerobik, mikotik, vb.) sahip kültür şişeleri kullanıldığı halde bu süre içinde kültürlerinde üreme olmayan hastalarda, güç üreyen ya da kültürü yapılamayan mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlar ya da antimikrobiyal kullanımı nedeniyle üreme inhibisyonu olabileceği düşünülmelidir.

Etken mikroorganizmanın saptanmasını etkileyen faktörler

Birçok klinik ya da teknik faktör, kullanılan sistemden bağımsız olarak etkenin saptanma olasılığını etkiler:

1) Klinik faktörler (*bkz.* **Tablo 3**)
   a) Kan kültürünün alınma şekli
   b) Alınan kan hacmi
   c) Alınan kan kültürü sayısı
   d) Önceki antibiyotik kullanımı
   e) Kan kültürünün alınma zamanı
2) Teknik faktörler
   a) Kullanılan besiyeri:

   Otomatize kan kültürü sistemlerinde farklı içeriğe sahip besiyerleri kullanılabilir. Birden fazla farklı besiyerinin (aerobik, anaerobik, mikotik, vb.) birlikte kullanılması etken saptanma olasılığını arttırır. Üreme olan kan kültürü şişelerinde mikrobiyal metabolizma sonucu artan karbondioksit, pH değişikliğine neden olur. Farklı sistemlerde pH değişikliği; şişe tabanında renk değişikliğine, floresan sinyale ya da redoks farklılıklarına yol açar. Bu farklılıklar sistem tarafından değerlendirilerek pozitiflikler saptanır.

Otomatize kan kültürü şişelerinde en sık kullanılan temel besiyeri triptik soy besiyeri ve soy-kazein-peptondur. Pediyatrik kan kültürü besiyerleri, güç üreyen patojenleri üretmede standart şişelere oranla daha başarılıdır. Etken mikroorganizmaların izolasyon oranını arttırabilmek için besiyeri içine sodyum polianetol sülfonat (SPS), antibiyotik bağlayan kömür veya reçine gibi maddeler de eklenmektedir.

b) Nötralizanlar:

Kan kültürü şişelerinde antibiyotiklerin inhibitör etkisini ortadan kaldırmak için besiyerine nötralizan madde olarak reçine veya kömür eklenmektedir. Reçinelerin antibiyotiği nötralize etme yeteneği kömüre kıyasla daha üstündür.

Sodyum polianetol sülfonat (SPS);

- Tüm kan kültürü vasatlarına, pıhtı oluşumunu önlemek için %0.01-0.083 oranında eklenen bir antikoagülandır (BioMérieux: %0.083; BD-Litik: %0.035; BD-reçineli: %0.05; VersaTrek: %0.0125).
- Aminoglikozitler başta olmak üzere birçok antibiyotiği inaktive eder kanda bulunan lizozim ve benzeri antibakteriyel faktörleri inhibe eder, komplemanı inaktive eder ve antifagositik etkilidir.
- *Neisseria* türleri, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Streptobacillus moniliformis*, *Gardnerella vaginalis*, *Moraxella catarrhalis* ve *Mycoplasma hominis* gibi bazı bakterilerin üremesi üzerine inhibe edici etkisi vardır.

c) İnkübasyon süresi ve sıcaklığı:

Otomatize kan kültürü sistemlerinde klinik önemi olan mikroorganizmaların hemen hepsi için beş günlük inkübasyon süresi yeterlidir. Bu süre, HACEK grubu bakteriler. *Brucella* türleri ve nütrisyonel varyant streptokoklar (*Abiotrophia/Granulicatella* türleri) da dâhil olmak üzere birçok güç üreyen bakterinin üremesi için de uygundur.

Bazı endokardit olgularında, antimikrobiyal tedavi alan hastalarda, dimorfik mantarların etken olduğu mantar enfeksiyonu kuşkusunda ya da güç üreyen bakterilerle olan bir enfeksiyon düşünülüyorsa, standart inkübasyon süresi içinde üreme saptanamayabilir. Bu durumda bile, inkübasyon süresini uzatmak gereksizdir. Bunun yerine, şişelerden bu mikroorganizmaların üretilmesini destekleyecek özel besiyerlerine pasaj yapılmalı ve pasajlar uygun koşullarda inkübe edilmelidir.

d) Besiyerinin çalkalanması:

Aerobik kan kültüründe özellikle örnek alındıktan sonraki ilk 24 saatte şişelerin çalkalanması üreme hızını arttırarak mikroorganizmanın daha erken saptanmasını sağlar. Anaerobik kan kültürü şişelerinde çalkalamanın üremeye bir etkisi yoktur. Otomatize sistemler kan kültürü şişelerini sürekli çalkalar ve belli aralıklarla (sıklıkla 10 dakikada bir) üreme göstergelerini kontrol eder.

Üreme sinyali vermeyen şişelerden kör ya da son pasaj

Otomatize sistemlerde inkübasyon süresi sonunda üreme olmayan şişelerden rutin olarak kör pasaj yapılması önerilmez. Ancak; *Neisseria* türleri, *Brucella* türleri, *Francisella* türleri, HACEK grubu bakteriler, *H. influenzae* ve *Legionella* türleri gibi bazı güç üreyen mikroorganizmalar ile *P. aeruginosa* ve *Candida* türleri kan kültüründe üreme belirtisi vermeden üreyebilir. Klinik bulguları ya da öyküsü bu organizmaları düşündüren hastalarda inkübasyon süresi sonunda kan kültürlerinden uygun besiyerlerine kör pasaj yapılabilir.

Laboratuvarda kan kültürlerinin değerlendirilmesi

Biyogüvenlik

a) Tüm örnekler asgari BGD2 laboratuvar koşullarında işlenmelidir. *Brucella* ve *Francisella* türleri, *Yersinia pestis*, *Burkholderia mallei* ve *Burkholderia pseudomallei*, *M. tuberculosis* gibi Risk Grubu-3'e giren bakterilerin kültürleri ise asgari BGD2+ laboratuvar koşullarında, mümkünse BGD3 laboratuvarda çalışılmalıdır.

b) Kan kültürü şişelerinden yapılacak her türlü işlem **BGK** içinde uygulanmalıdır. Aerosol oluşturan işlemler yapılırken ek olarak, koruyucu gözlük ve maske kullanılmalıdır.

Risk Grubu-3'te yer alan **termal dimorfik** mantarların 37°C'de maya formunda ürediği unutul**ma**malı, özellikle **endemik bölgelere seyahat öyküsü** olan hastalarda kan kültüründe maya üremesi tespit edilirse akla gelmelidir.

c) Kan kültürleri ile yapılan tüm laboratuvar işlemleri boyunca eldiven giyilmelidir.

d) Şişelerden örnek aktarılmasında güvenlikli iğneler veya iğnesiz transfer araçlarının kullanımı tercih edilmelidir. Kullanılan iğne uçlarına **asla** kılıfı tekrar takıl**ma**malıdır. Kullanılan enjektörler her zaman kesici-delici alet kabına atılmalıdır.

Pozitif sinyal veren şişelerin değerlendirilmesi

a) Kan kültürü şişesi cihazdan çıkartılır.

b) Şişe başlığı dezenfektan (%70 etanol/izopropil alkol) ile silinir ve kuruması beklenir.

c) Mikroskobik inceleme için 1-2 damla kan örneği alkolle temizlenmiş bir lama damlatılarak ince yayma preparatı hazırlanır ve boyama (Gram, metilen mavisi, akridin oranj, Giemsa, karbol fuksin, modifiye asit fast, vb.) yapılır.

Pozitif sinyal veren şişelerden pasaj yapılacak besiyerleri ve inkübasyon koşulları **Tablo 7**'de, Gram boyama sonuçlarına göre olası etkenlere yönelik ek öneriler **Tablo 8**'de verilmektedir.

Aerotolerans testinde çikolata agar kullanılması, anaerobik ortamda KKA'da üreyebilen *Haemophilus* türlerinin yanlışlıkla Gram-negatif anaerobik basiller olarak tanımlanmasını önler.

d) Aerobik kan kültürü şişelerinden koyun kanlı agar (KKA), çikolata agar ve en az bir adet Gram-negatif seçici besiyerine (eosin-methylene blue agar [EMB], MacConkey agar [MAC], kromojenik agar, vb.) 1-2 damla kan örneği damlatılır, tek koloni düşürme tekniği ile ekim yapılır. KKA ve çikolata agar besiyerleri %5 CO_2'li ortamda, EMB/MAC plakları normal atmosfer şartlarında, 35-37°C'de 24-48 saat süreyle inkübe edilir (**Tablo 7**). Boyama sonucuna göre gerektiği takdirde ek besiyerlerine (Sabouraud dekstroz agar [SDA], anaerobik kanlı agar, vb.) de 1-2 damla kan örneği damlatılır ve tek koloni düşürme tekniği ile ekim yapılır. Uygun inkübasyon şartlarında inkübe edilir.

e) Anaerobik kan kültürü şişelerinden sinyal alındığında %5 kan eklenmiş Schaedler, anaerobik bazal agar veya *Brucella* agar gibi *K vitamini* ve *hemin* içeren herhangi bir zenginleştirilmiş anaerobik besiyerine ve çikolata agara 1-2 damla damlatılarak tek koloni düşürme tekniği ile ekim yapılır. Ayrıca tiyoglikolatlı sıvı besiyerine de 1-2 damla kan örneği damlatılır. Ekim yapılan anaerobik besiyeri anaerobik ortamda (%80-90 N_2, %5-10 H_2, %5-10 CO_2), çikolata agar %5-10 CO_2'li ortamda, tiyoglikolat sıvı besiyeri normal atmosferik şartlarda 35-37°C'de inkübe edilir.

Anaerobik kan kültürü şişesinden ilk yapılmış olan pasajlar da aerotolerans testi için yapılan pasajlarla birlikte **tekrar** anaerobik ortama kaldırılır.

İnkübasyonun 5. gününe kadar ilk ekimi yapılan plaklarda yeni üreyen koloniler olup olmadığı kontrol edilir.

Clostridium perfringens anaerobik kan kültürlerinin sık rastlanılan kontaminantlarındandır.

Clostridium perfringens sporları insan cilt yüzeyinde bulunabilir, örnek alırken cilt antisepsisinin uygun şekilde sağlan**ma**ması durumunda kontaminasyona neden olabilir.

Bu nedenle üreyen *C. perfringens* izolatları için etken/kontaminant ayrımının yapılması gereklidir. Dolayısıyla üreme gösteren set sayısının değerlendirilmesi ve **klinisyenle iletişime geçilmesi** önemlidir.

Anaerobik ortamda inkübe edilen plaklar inkübasyonun 48-72. saatinde üreme yönünden kontrol edilir, oluşan kolonilerden aerotolerans testi yapılır.

Aerotolerans testi için farklı kolonilerin her birinden hem anaerobik besiyerine hem de çikolata agara pasaj yapılır. Anaerobik besiyeri anaerobik koşullarda, çikolata agar ise %5-10 CO_2'li ortamda inkübe edilir. Çikolata agarda üremeyip anaerobik ortamda üreyen bakteriler **zorunlu anaerobik bakteri** olarak kabul edilir.

Tiyoglikolatlı sıvı besiyerinde üreme olup olmadığı günlük olarak takip edilmelidir. Dipte bulanıklık görülmesi ve gaz baloncuklarının oluşması anaerobik bakteri varlığını düşündürmesi bakımından önemlidir. Ayrıca *Clostridium perfringens* tiyoglikolatlı besiyerinde 6-8 saat gibi kısa sürede üreyebildiği için bu değerlendirme, erken tanının hayati önem taşıdığı *C. perfringens* sepsisinde önemli bir yere sahiptir.

Hastanın kliniğine ya da Gram boyalı preparatın değerlendirme sonucuna bağlı olarak *Cutibacterium acnes* veya *Actinomyces* türleri gibi yavaş üreyen anaerobik bakteriler etken olarak düşünülüyorsa inkübasyon süresi 10-14 güne kadar uzatılır!

Anaerobik torba ya da kavanozlar 48-72 saate kadar açıl**ma**malıdır. Anaerobik kabin olması durumunda ise plaklar günlük kontrol edilmelidir.

Tablo 7. Pozitif sinyal veren şişelerden pasaj yapılacak besiyerleri ve inkübasyon koşulları

Pozitif şişe	Standart besiyeri	İnkübasyon koşulları			Değerlendirme sıklığı	Hedef organizma
		Sıcaklık	Atmosfer	Süre		
Aerobik	KKA, ÇA	35-37°C	%5-10 CO_2'li	24-48 sa	Günlük	Klinik önemi olabilecek herhangi bir organizma
	EMB/MAC	35-37°C	Aerobik	24-48 sa	Günlük	
Anaerobik	Anaerobik kanlı besiyeri**	35-37°C	Anaerobik	48 sa - 5 gün*	48. sa ve 5. gün*	
	Tiyoglikolat, ÇA	35-37°C	%5-10 CO_2'li	24-48 sa	Günlük	

Kısaltmalar – KKA, koyun kanlı agar; ÇA, çikolata agar; EMB, eozin-metilen mavisi agar; MAC, MacConkey agar; sa, saat

* Hastanın kliniğine ya da Gram boyalı preparatın değerlendirme sonucuna bağlı olarak *Cutibacterium acnes* veya *Actinomyces* türleri gibi yavaş üreyen anaerobik bakteriler etken olarak düşünülüyorsa inkübasyon süreleri 10-14 güne kadar uzatılır.

**Anaerobik kanlı besiyerleri: Schaedler kanlı agar, anaerobik bazal kanlı agar veya *Brucella* kanlı agar, vb.

Pasajların değerlendirilmesi

Etken olduğu düşünülen tüm mikroorganizmalar için tür düzeyinde tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testi yapılır.

Etken olabileceği düşünülen tüm olası **kontaminantlar** için de tür düzeyinde tanımlama yapılmalıdır.

Antifungal duyarlılık testi çalışan merkezlerde Gram boyamada maya görülmesi durumunda SDA besiyerine pasaj yapılması, duyarlılık testleri için zaman kazandırır.

Tablo 8. Gram boyama sonuçlarına göre olası etkenlere yönelik ek öneriler

Gram boyama	Önerilen ek besiyeri	Ek besiyeri için inkübasyon koşulları			Değerlendirme sıklığı	Olası etkenler
		Sıcaklık (°C)	Atmosfer	Süre		
Küçük Gram-negatif kok, diplokok, kokobasil	-	-	-	-	-	*Haemophilus* türleri *N. meningitidis* *N. gonorrhoeae*
Gram-negatif basil	CLED agar, Kromojenik besiyeri	35-37	Aerobik	16-24 sa	≥16 sa	Enterobacterales üyeleri Non-fermentatifler
Mikroskopisi karışık ya da anaerobik bakteri morfolojisi	Seçici anaerobik besiyerleri**	35-37	Anaerobik	5-7 gün	48. sa ve 5. gün*	Anaerobik bakteriler
Maya hücreleri; yalancı hif ve hif yapıları	SDA†	25-30	Aerobik	5 gün	Her gün	Mayalar ve küfler
	SDA	35-37				
Daha önce yapılan Gram boyamada mikroorganizma görüldüğü halde kültürde üreme yok	KKA, seçici besiyerleri	35-37	Mikroaerofilik	5 gün	3. ve 5. gün	*Campylobacter* türleri *Helicobacter* türleri
	KKA'da sütanne fenomeni$	35-37	%5-10 CO_2	40-48 sa	≥40 sa	Nütrisyonel varyant streptokoklar
	Fastidious anaerobik agar	35-37	Anaerobik	5 gün	≥40 sa ve 5. gün	Sisteine ihtiyaç gösteren anaerobik bakteriler
	CLED agar	35-37	Aerobik	16-24 sa	≥16 sa	Sisteine ihtiyaç gösteren mikroorganizmalar

Kısaltmalar – KKA, koyun kanlı agar; CLED, cystein lactose electrolyte deficient agar; SDA, Sabouraud dekstroz agar

* Hastanın kliniğine ya da Gram boyalı preparatın değerlendirme sonucuna bağlı olarak *Cutibacterium acnes* veya *Actinomyces* türleri gibi yavaş üreyen anaerobik bakterilerin üreme ihtimali düşünülüyorsa inkübasyon süreleri 10-14 güne kadar uzatılır.

** *Bacteroides* bile esculin agar, kanamisin-vankomisinli lize edilmiş kanlı agar, fenil etil alkol agar.

† Gram boyamada birden fazla mikroorganizma görülmesi durumunda ve bunlardan birinin maya olması durumunda mantar üremesinin baskılanmaması için SDA besiyerine de pasaj yapılmalıdır.

$ Sütanne fenomeni: Kanlı agar üzerine kan kültürü şişesinden pasaj yapıldıktan sonra plak çapı boyunca *S.aureus* çizgi ekimi yapılır.

Kan kültürü şişelerinde ve/veya standart besiyerlerine yapılan pasajlarda güç üreyen mikroorganizmalar

- **Nütrisyonel varyant streptokoklar *(Abiotrophia/Granulicatella)*:** Otomatize kan kültürü sistemlerinde sıklıkla ikinci günden sonra ürerler. Pasajlarının üremesi için ekim yapılan besiyerinde piridoksal veya sistein bulunması gerekir. KKA'ya yapılan pasajlarda üremezler. Ancak agar üzerine *S. aureus* ile çizgi ekimi yapılırsa etrafında uydu koloniler oluşturarak ürerler (sütanne fenomeni). Çikolata agarda ve anaerobik bakteriler için uygun olan besiyerlerinde ürerler.
- ***Bartonella* türleri:** Kan kültürü şişesinde ürese bile rutin pasajlarda izolasyonu zordur. Kuşkulanılan hastada tanı için seroloji/moleküler testlerin kullanılması önerilir. Kültür için lizis santrifügasyon gibi bir yöntem kullanılması ve taze hazırlanmış ve zenginleştirilmiş KKA, çikolata agar, vb. besiyerine ekim yapılması gerekir. Plaklar 35°C'de %5 CO_2'li ve nemli atmosferde 14-21 gün süreyle inkübe edilmelidir.
- ***Brucella* türleri:** Otomatize sistemlerde genellikle üç gün içinde ürer. Sıklıkla sadece aerobik şişede üretilir. Pasajlarda yavaş ürer, Gram-negatifler için seçici besiyerlerinde üremez. KKA, çikolata agar, vb. besiyerine ekim yapılması gerekir.
- ***Campylobacter* türleri:** Otomatize sistemlerde tipik olarak 2-3 günlük inkübasyon süresinin sonunda ürer. Pasajları uygun besiyerine yapılmalı ve mikroaerofilik koşullarda inkübe edilmelidir. Sıklıkla 48 saatlik inkübasyon sonunda pasajlarında koloniler oluşturur.
- ***Francisella tularensis*:** Standart kan kültürü şişelerinde genellikle geç ürer; üremesi bazen 10 günden uzun sürebilir. Klinik kuşkulu olgularda inkübasyon süresi uzatılabilir; inkübasyon süresinin sonunda kör pasaj yapılabilir. İnce ve pleomorfik boyanma özelliği nedeniyle Gram boyalı preparatlarda kolayca gözden kaçabilir. Şişeden yapılan ilk pasajlarında KKA plaklarında üremeyebilir.

Biyogüvenlik gerekleri nedeniyle, direkt mikroskobik incelemede ince, zayıf boyanmış Gram-negatif ya da değişken Gram boyanma özelliği gösteren kokobasiller görülen ve kültürde üreme özellikleri *F. tularensis*'i düşündüren koloniler tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarında çalışıl**ma**malı, tüm kültür plakları ileri işlemler için **referans laboratuvara gönderilmelidir**.

- **HACEK grubu:** *Haemophilus* türleri, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Eikenella corrodens, Cardiobacterium* türleri ve *Kingella* türleri bu grupta yer alır. Otomatize sistemlerde sıklıkla inkübasyon süresinin sonuna doğru ürerler. Pasajlarında üremesi yavaştır, üreme olmadığını söylemek için pasajlarının beş güne kadar inkübe edilmesi önerilir.
- ***Helicobacter* türleri:** Özellikle bağışıklık yetmezliği olan hastalarda bakteriyemiye yol açabilir. Otomatize kan kültürü sistemlerinde üç gün gibi kısa sürede üreyebilirse de klinik kuşkulu olgularda inkübasyon süresinin yedi güne uzatılması, şişeden sinyal alınmasa bile bu sürenin sonunda zenginleştirilmiş kanlı agara kör pasaj yapılarak mikroaerofilik atmosferde inkübe edilmesi önerilir.
- ***Legionella* türleri:** Protez kapak endokarditi ve renal transplant alıcılarında sepsis etkeni olabilir. Klinik şüphe durumunda beş günlük inkübasyon süresinin ardından kan kültürü şişesinden tamponlanmış kömürlü maya ekstreli (BCYE) agar besiyerine pasaj veya lizis santrifügasyon yöntemi ile BCYE ekimi yapılabilir.
- ***Leptospira* türleri:** Kan kültüründen izole edilmesi zordur. Kuşku varsa seroloji veya moleküler testler gibi diğer tanı yöntemleri kullanılmalıdır.
- ***Mycoplasma* türleri:** Otomatize kan kültürü sistemlerinde üretilemez. Kuşku varsa seroloji/moleküler testler vb. diğer tanı yöntemleri kullanılmalıdır.

Bazı özel etkenler için önerilen uygun tanı yöntemleri ve değerlendirilmesi önerilen klinik örnekler **Tablo 9**'da verilmiştir.

Gram boyamada Gram-pozitif kok görüldüğü halde yapılan pasajlarda üreme olmaması durumunda etken vankomisin bağımlı enterokoklar olabilir; kanlı agara pasaj yapılması ve vankomisin diski yerleştirilmesi uygundur.

Tablo 9. Özel etkenler ve uygun tanı yöntemleri

Etken	Uygun tanı yöntemi	Uygun örnek
Bartonella türleri	En az iki lizis-santrifügasyon (izolatör) kan kültürü şişesi	10 mL kan, her bir lizis santrifügasyon kültür şişesine doğrudan inoküle edilir
	NAAT	5 mL plazma
Legionella türleri	En az iki lizis-santrifügasyon (izolatör) kan kültürü şişesi	10 mL kan, her bir lizis santrifügasyon kültür şişesine doğrudan inoküle edilir
	L. pneumophila (serogrup 1) için üriner antijen testi	10 mL orta akım idrarı
Coxiella burnetii	IFA	5 mL serum
	NAAT	5 mL plazma
Tropheryma whipplei	NAAT	5 mL plazma

Kısaltmalar - NAAT, nükleik asit amplifikasyon testi; IFA, indirekt floresan antikor testi

Mikobakteri türlerinin tanısında kan kültürü

Mikobakteri kan kültürlerinde, mikobakteriler için spesifik olarak üretilmiş şişelerin kullanılması gereklidir. Bununla birlikte, standart aerobik kan kültürü şişelerinde de tüberküloz dışı mikobakterilerin üreyebildiği gösterilmiştir. Hızlı üreyen bazı türler rutin takip süresinde tespit edilebilirken yavaş üreyen türler için inkübasyon süresinin altı haftaya kadar uzatılması önerilmektedir.

Pozitif sinyal veren şişelerden yapılan pasajlarda, kanlı agar/çikolata agar gibi rutin besiyerlerinde bazı hızlı üreyen mikobakteriler üreyebilirler. Mikroskobik değerlendirmede; Gram-pozitif, sivri uçlu basiller şeklinde görülür ve korineform bakterilerle karıştırılabilirler. Küçük kolonilerin varlığında, mikroskobik değerlendirme sonucunda farklı alanlarda Gram boyama ile zayıf boyanmış ya da Gram-pozitif basiller görülmesi durumunda mutlaka aside dirençli boyama yapılarak mikobakteri varlığı araştırılmalıdır. Mikobakteri kan kültürleri, rehberler tarafından özellikle bağışıklık yetmezliği olan hastalar için önerilmekle birlikte, duyarlılıkları mikobakteri kan kültürü şişelerinde bile %5-30 arasındadır. Bunun nedeni mikobakteri enfeksiyonlarında genellikle düşük düzey bakteriyemi görülmesidir.

Standart aerobik kan kültürü şişelerinde tüberküloz dışı mikobakterilerin üreyebileceği akılda tutulmalıdır.

Sonuç olarak, mikobakterilere bağlı bakteriyemilerin tespitinde bu bakteriler için özel üretilmiş şişelerin kullanılması gerekmektedir.

Mantarların tanısında kan kültürü

Fungemilerde en sık izole edilen mantar *Candida* türleridir. Kandidemilerin %95'inden beş *Candida* türü (*C. albicans, C. glabrata, C. tropicalis, C. parapsilosis, C. krusei*) sorumludur. *Candida* dışı mantarlar (bazı maya/maya benzeri mantarlar [*Cryptococcus*, *Trichosporon, Rhodotorula, Hansenula, Geotrichum* türleri] ile bazı filamentöz mantarlar [*Fusarium, Scedosporium* veya *Exophiala* türleri]) fungemilerin yaklaşık olarak %10'unu oluşturur.

Kan kültürünün alınması ve işlenmesi için yapılması gereken laboratuvar uygulamaları, bakteriyemili ve kandidemili olgular için benzerdir.

- Kan kültüründen mantarların izolasyonu için lizis santrifügasyon sistemi (Isolator sistem; Wampole Laboratories, Cranbury, NJ) ya da otomatize ticari sistemler (VersaTREK [Trek Diagnostic Systems, Cleveland, OH], BacT/Alert [bioMérieux, Durham, NC] ve BACTEC [BD Diagnostics, Sparks, MD]) kullanılabilir.
- Mantarların izolasyonunda lizis santrifügasyon yöntemi önerilmektedir. Ancak bu yöntemin kontaminasyon riski vardır. Tıbbi önemi olan birçok maya ***standart* kan kültürü şişeleri** ile üretilebilir. Bazı otomatize sistemlerde mantarların üremesini kolaylaştıran mikotik kan kültür şişeleri de mevcut olup, bu şişelerin ek olarak kullanılması, *Malassezia* türleri hariç, patojen olan tüm maya mantarlarının saptanma olasılığını artırmaktadır.
- Filamentöz küfler ve dimorfik mantarların (*Histoplasma capsulatum* ve *Coccidioides immitis/posadasii*) tanısında ise lizis santrifügasyon (Isolator) sistemi kullanılmalıdır.
- *Malassezia* türlerinin izolasyonunda lizis santrifügasyon önerilmektedir. Periferik kandan yapılan direkt mikroskobik incelemede *Malassezia* türleri açısından maya hücreleri dikkatle değerlendirilmeli ve lipitten zengin besiyerine pasaj kültürleri yapılmalıdır.
- Yetişkin veya pediyatrik Isolator tüplerine alınan kan, işleme alınıncaya dek (en fazla 16 saate kadar) oda sıcaklığında tutulabilir.
- Lizis santrifügasyon sonrası elde edilen çökelti, sikloheksimid içer**me**yen zenginleştirilmiş besiyerine ekilmelidir.
- Kandidemi kuşkusu olan hastadan *günlük* kan kültürü alınarak hastanın izlenmesi önerilmektedir.
- Kandidemilerde kan kültürünün duyarlılığı %50-75'tir. Ancak bu oran nötropenik hastalarda ve antifungal tedavi alanlarda daha düşük saptanmaktadır. Bu nedenle kandidemi kuşkusunda, kan kültüründe üreme olmazsa, yardımcı tanı testleri kullanılmalıdır. Ayrıca *Candida* türüne, kullanılan otomatize sisteme ve kan kültürü şişesine (aerobik, anaerobik, mantar kan kültürü şişesi) göre duyarlılığın değişebileceği akılda tutulmalıdır. Örneğin *C. glabrata* anaerobik kan kültürü şişelerinde daha erken üreme sinyali verebilmektedir.
- Otomatize kan kültürü sistemlerinde inkübasyon süresi üretici firmanın önerileri doğrultusunda belirlenmelidir. Genel olarak bu süre *standart* kan kültürü şişeleri için beş gün, mikotik kan kültürü şişeleri için ise en az üç haftadır.
- Pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden SDA besiyerine pasaj yapılmalı, üreyen mantar dikkatle değerlendirilmelidir.
- Saprofit filamentöz mantarlar (*Aspergillus* ve Mucorales gibi) ciddi enfeksiyona yol açan etkenlerdir. Ama aynı zamanda örnek ya da besiyeri kaynaklı kontaminasyona sebep olabilirler. Bu nedenle, bu mantarların kan kültüründe saptanmaları durumunda üremenin doğru şekilde değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

Ülkemiz dimorfik mantarlar açısından endemik bir bölge olmadığı ve filamentöz mantarlar da nadir fungemi nedeni oldukları için, kullanılacak kan kültürü sisteminin belirlenmesinde lizis santrifügasyon sistemi öncelikli **değildir**.

- İnvaziv aspergillozda *Aspergillus* türleri nadiren kandan izole edilirler. Bu nedenle kan kültüründe saptanan üremeler genellikle kontaminasyon olarak değerlendirilmekle birlikte nadir de olsa etken olabileceği akılda tutulmalıdır.

Hızlı tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testleri

Kan kültürü pozitif sinyal verdikten sonra Gram boyama sonuçlarının iki saat içinde, hızlı tanımlama sonuçlarının ise 1-8 saat arasında verilmesi gerekir.

Sepsisin hızlı tanısında kullanılabilecek ticari testler **Tablo 10**'da verilmiştir.

Tablo 10. Sepsisin hızlı tanısında kullanılabilecek ticari sistemler

Tanımlama yöntemi		Saptanabilen etken sayısı	Tanımlanan direnç geni	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	Test sonuçlanma süresi (sa)
Ticari ismi	Prensibi					
A. Pozitif kan kültüründen uygulananlar						
PNA-FISH (AdvanDx, ABD)	Floresan bazlı hibridizasyon	10	-	88-99	>98	1.5-3
AccuProbe (Gen-Probe, ABD)	Kemilüminesan DNA prob (rRNA)	5	-	80.8-100		<1
HYPLEX (BAG, Almanya)	Multipleks PCR+ hibridizasyon	10	*mecA*	96-100		
PLEX-ID BAC (Abbott Molecular, ABD)	Geniş spektrumlu PCR+ ESI-MS	>300	-	95		
StaphPlex (Qiagen, ABD)	Multipleks PCR+ mikroarray	*S. aureus*	*mecA*	100	95-100	5
Staph SR (BD GeneOhm, ABD)	Multipleks PCR	*S. aureus*	*mecA*	96-100	95-98	1-2
MALDI-TOF MS	Kütle spektrometrisi	Yüzlerce	-	>76	>96	<1
Prove it sepsis (Xpert, Cepheid,ABD)	Multipleks PCR+ mikroarray	60 bakteri, 13 mantar	*mecA, vanA/B*	96-99	98-100	3
Verigene Gram negatif bakteri(Nanosphere, ABD)	Nükleik asit temelli mikroarray	9 cins/tür Gram-negatif	CTX-M, NDM, KPC, OXA, VIM	89-100	93-100	2.5
Verigene Gram pozitif bakteri(Nanosphere, ABD)	Nükleik asit temelli mikroarray	13 cins/tür Gram-pozitif	*mecA, vanA/B*	92.6-100	95.4-100	2.5
Filmarray (Biofire, ABD)	Gerçek zamanlı multipleks PCR	19 cins/tür bakteri 5 *Candida* türü	*mecA, vanA/B*, KPC	80.4-97	95-100	1
Xpert MRSA/SA (Cepheid, ABD)	Multipleks gerçek zamanlı PCR	*S. aureus*	*mecA*	>98	>98	1
B. Tam kandan uygulananlar						
Xpert MRSA/SA (Cepheid, ABD)	Multipleks gerçek zamanlı PCR	*S. aureus*	*mecA*	68-75	86-92	
Septifast (Roche, İsviçre)	Multipleks gerçek zamanlı PCR	14 Gram (+)/(-) bakteri, 5 mantar	*mecA*	43-95	60-100	4-5
VYOO (SIRS Lab, Almanya)	Multipleks PCR+jel elektroforezi	32 Gram (+)/(-) bakteri, 7 mantar	-	30-51		8
SepsiTest (Molzym, Almanya)	Geniş spektrumlu PCR+ sekanslama	>345 Gram (+)/(-) bakteri ve mantar	-	86-87	83-85	8-12
Magicplex (Seegene, Kore)	Gerçek zamanlı PCR	90 bakteri, 6 mantar	*mecA, vanA/B*	37-65	77-92	4-6
PLEX-ID (Abbott Molecular, ABD)	Multipleks PCR/ESI-MS	~800 Gram (+)/(-) bakteri ve mantar	*mecA, vanA/B, KPC*	50-91	98-99	6

Kısaltmalar – ESI-MS, elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometrisi, MALDI-TOF MS, matriks ilişkili lazer dezorbsiyon iyonizasyon-uçuş süresi kütle spektrometrisi

Gram boyama sonucuna ve laboratuvar politikasına göre yarı otomatize/otomatize sistemler veya MALDI-TOF MS ile hızlı tanımlama (HT) ve/veya hızlı antimikrobiyal duyarlılık testleri (ADT) yapılabilir:

1) **Gram-pozitif küme kok:** *S. aureus* ve KNS ayrımı için laboratuvar politikasına göre kan kültürü şişesinden hızlı koagülaz ve termostabil DNaz testi gibi geleneksel testler yapılabilir.
2) **Gram-pozitif zincir kok, diplokok:** Laboratuvar politikasına göre HT ve ADT uygulanabilir.
3) **Gram-pozitif basil:** HT ve ADT uygulanması önerilmez. Ancak hastanın klinik bulguları *Clostridium* türleri, *Listeria* türleri, vb. bir etkenin izolasyon olasılığına işaret ediyorsa yapılabilir.
4) **Gram-negatif kok/kokobasil:** *Neisseria* türleri, *Acinetobacter* türleri gibi patojenler olabilir. Laboratuvar politikasına göre HT ve ADT uygulanabilir.
5) **Gram-negatif basil:** Laboratuvar politikasına göre HT ve ADT uygulanabilir.
6) **Maya:** Kan kültürü şişesinden doğrudan germ-tüp testi yapılarak *C. albicans*/*C. dubliniensis* tanımlanabilir.

Acinetobacter türlerinin ilk izolasyonda Gram-pozitif boyanabileceği unutulmamalıdır!

Kan kültürü şişelerinden hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi

Dolaşım sistemi enfeksiyonlarında hızlı tanı ve doğru antimikrobiyal tedavinin erken başlatılması hayati öneme sahiptir. Kan kültürü şişelerinden üreme sinyalini takiben pasajların yapılması, geleneksel tanımlama ile ADT gerçekleştirilmesi ve sonuçlandırılması için 24-48 saat gibi ek bir süreye gerek vardır. Bu nedenle etken mikroorganizmanın hızlı tanımlanması ve ADT yapılması kritik öneme sahiptir. Literatürde kan kültürü şişelerinden otomatize sistemler veya disk difüzyon testi (DDT) kullanılarak doğrudan gerçekleştirilen çok sayıda ADT çalışması bulunmaktadır; EUCAST-hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi (HADT), standardize edilmiş tek yöntemdir.

Disk difüzyon testi, tüm tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında ADT sonuçlarının elde edilmesi için standardize edilmiş, uygulaması kolay, ek cihaz ve donanım gerektirmeyen, ucuz, tekrarlanabilir ve güvenilir bir yöntemdir. Standart DDT ile ADT sonuçlarının yorumlanabilmesi için 16-20 saatlik inkübasyon süresine gerek vardır. Öte yandan, EUCAST-HADT ile ≤8 saatte sonuç alınmaktadır; bu da kritik hastaların erken tedavisi için büyük önem taşımaktadır.

EUCAST-HADT yöntemi, pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden (Becton Dickinson, bioMérieux ve Thermo Fisher) doğrudan uygulanmak üzere geliştirilmiştir. Bu yöntemde, pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden 125±25 µL kan alınarak, standart ADT plaklarına (Mueller Hinton agar [MHA] veya Mueller Hinton fastidious agar [MHA-F]) inoküle edilir. Plaklar, uygun koşullarda 35±1°C'de inkübasyonu takiben 4, 6 ve 8. saatlerde değerlendirilir. İnokülasyon öncesinde herhangi bir ek işlem (santrifüjleme, seyreltme, vb.) yapılmasına gerek yoktur. Plakların inokülasyonu, standart DDT'de yapıldığı şekilde gerçekleştirilir. Zon çaplarının ölçümü, plakların kapakları kaldırıldıktan sonra plak ön yüzünden yapılmalıdır. Her tür için belirlenen zaman dilimleri için eşik değerler tanımlanmış ve EUCAST web sayfasında[1] yayımlanmıştır.

[1] EUCAST web sayfası: https://www.eucast.org/rapid_ast_in_blood_cultures/breakpoints_for_short_incubation/

EUCAST-HADT uygulanacak laboratuvarlarda dikkat edilmesi gereken konular[2]

- EUCAST-HADT çalışması için laboratuvar çalışanlarından biri görevlendirilerek tüm sürecin sorumluluğunu ve işleyişini üstlenmesi sağlanmalıdır.
- Yöntemin uygulanabilmesi için mikroorganizmanın tür tayininin yapılmış olması gereklidir. Her tür için türe özgü diskler ve değerlendirme tabloları kullanılmalıdır. Testin valide edilmediği diğer türler için bu yöntem kullanıl**ma**malıdır.
- Yöntem 2021 yılında *E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa, A. baumannii, S. pneumoniae, S. aureus, E. faecalis ve E. faecium* türleri için valide edilmiştir.

  Sonuçların değerlendirilmesinde EUCAST-HADT yöntemine uyulmalıdır. Belirlenen zamanlarda okuma (4-6-8. saatler) gerçekleştirilmeli, her antibiyotik için o türe özgü tanımlanmış eşik değerler kullanılarak duyarlılık kategorileri belirlenmelidir. EUCAST-HADT değerlendirmesinde **ASLA** standart eşik değer tabloları kullanıl**ma**malıdır**!** EUCAST-HADT için kullanılması gereken eşik değer tablolarına EUCAST web sayfasından[1] ulaşılabilir.
- Zon çapları sadece belirgin üreme olan ve inhibisyon zon sınırları net olarak görülebilen plaklarda ölçülmelidir. Dördüncü saatte belirgin üreme yoksa veya zon sınırı net olarak izlenemiyorsa inkübasyona devam edilmeli, 6. ve 8. saatte tekrar değerlendirilmelidir.
- Okuma, plağın kapağı kaldırıldıktan sonra plak ön yüzünden (MHA için koyu renk zemin üzerinde, MHA-F için açık renk zemin üzerinde) gerçekleştirilmelidir. Bu şekilde değerlendirildiğinde okunamayan plaklar tekrar inkübe edilmelidir.
- Plaklar sekiz saatten daha uzun süre inkübe edil**me**melidir. İnkübasyonu uzatmak veya gecelik inkübasyon gerekirse standart DDT raporlanmalıdır.
- Plaklar, inkübasyon süresi sonunda ±5 dakika içinde okunmalıdır. Zon kenarlarının 4. veya 6. saatte değerlendirilememesi durumunda, plaklar *en geç* 10 dakika içinde tekrar inkübasyona alınmalıdır.
- Teknik belirsizlik alanı (TBA) içinde kalan sonuçlar için plak 6. ve gerekirse 8. saatte tekrar değerlendirilmelidir. İnkübasyon süresi maksimum 8. saate kadar uzatılmalı, 8. saat sonunda sonuç hala TBA içinde kalıyorsa standart DDT raporlanmalıdır.
- Yöntemin laboratuvarda uygulanmasından önce EUCAST tarafından önerilen kalite kontrol suşları için belirlenen hedef ve aralık değerleri kullanılarak yöntem doğrulaması yapılabilir. Bunun için kalite kontrol suşlarının tüm süreci değerlendirmek üzere şişelere inoküle edilmesi, şişelerin kan kültürü cihazında inkübe edilmesi, üreme sinyali alınınca şişelerden EUCAST-HADT çalışılması ve 4., 6. ve 8. saatlerde sonuçların değerlendirilmesi gereklidir. Yöntem doğrulama çalışması şu durumlarda gerçekleştirilmelidir:
  - Laboratuvarda EUCAST-HADT çalışılmaya başlandığında,
  - Yeni başlayan personelin eğitiminde,
  - Kan kültürü sistemi değiştirildiğinde,
  - Besiyeri, disk gibi sistem bileşenlerinde herhangi bir değişiklik yapıldığında.

Kan kültürü şişelerinin hazırlanması

EUCAST-HADT yöntemi BACTEC (Becton Dickinson), BacT/Alert (bioMérieux) ve VersaTREK (Thermo Fisher) kan kültürü şişeleri için valide edilmiştir. Yöntem, şişeler pozitif sinyali verdikten sonraki 0-18 saatlik aralıkta uygulanmalıdır. EUCAST-HADT için hazırlıklar tamamlanana kadar kan kültürü şişelerinin cihazdan çıkartıl**ma**ması gereklidir. Şişelerin sistemden çıkartılması gerekliyse oda sıcaklığında *en geç* 3 saat içinde çalışılmalıdır.

[2] https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/RAST/RAST_implementation_v1_20181126.pdf

Plakların inokülasyonu

Kan kültürü şişesinden alınan 125±25 µL kan, doğrudan 90 mm çaplı, MHA veya MHA-F besiyerlerine, standart inokülasyon tekniği kullanılarak en az üç yönde, homojen bir şekilde yayılır. Standart ADT kurallarına uygun şekilde plaklara diskler yerleştirilir. EUCAST-HADT için kullanılan diskler **Tablo 11**'de verilmiştir.

Tablo 11. EUCAST-HADT için kullanılan diskler

Antibiyotik	Disk içeriği (µg)	Mikroorganizma							
		E. coli	*K. pneumoniae*	*P. aeruginosa*	*A. baumannii*	*E. faecalis*	*E. faecium*	*S. aureus*	*S. pneumoniae*
Ampisilin	2					X	X		
Oksasilin (tarama)	1								X
Piperasilin tazobaktam	30-6	X	X	X					
Sefepim	30			X					
Sefoksitin (tarama)	30							X	
Sefotaksim	5	X	X						
Seftazidim	10	X	X	X					
Seftazidim-avibaktam	10-4	X	X	X					
Seftolozan-tazobaktam	30-10	X	X	X					
İmipenem	10	X	X	X	X	X	X		
Meropenem	10	X	X	X	X				
Norfloksasin (tarama)	10							X	X
Siprofloksasin	5	X	X	X	X				
Levofloksasin	5	X	X	X	X				
Amikasin	30	X	X	X	X				
Gentamisin	10	X	X		X			X	
Gentamisin (yüksek düzey direnç tarama)	30					X	X		
Tobramisin	10	X	X	X	X				
Trimetoprim-sülfametoksazol	1,25-23,75	X	X		X				X
Eritromisin (indüklenebilir makrolid direnci tarama)	15							X	X
Klindamisin	2							X	X
Vankomisin	5					X	X		
Linezolid	10					X	X		

İnkübasyon ve plakların okunması

Plaklar **Tablo 12**'de verilen koşullarda inkübe edilmelidir. Planlanan okuma süresi sonunda ±5 dakika içinde inhibisyon zonları değerlendirilmelidir. İnkübasyon süresinin uzatılması gerekiyorsa 10 dakika içinde plaklar tekrar inkübasyona alınmalıdır. Plaklar 8 saatten daha uzun süre inkübe edil**me**melidir.

Tablo 12. ADT plaklarının inkübasyon koşulları

Organizma	Besiyeri	İnkübasyon süresi	İnkübasyon koşulları
E. coli *K. pneumoniae* *A. baumannii* *S. aureus* *E. faecalis* *E. faecium*	MHA	4, 6 ve 8 saat	35±1°C Normal atmosfer
P. aeruginosa	MHA	6 ve 8 saat	35±1°C Normal atmosfer
S. pneumoniae	MHA-F	4, 6 ve 8 saat	35±1°C %4-6 CO_2 içeren ortam

Plakların değerlendirilmesi

MHA plaklarındaki üreme genellikle 4-8 saatlik inkübasyon süresi sonunda, standart inkübasyon süresine (16-20 saat) göre daha silik olmaktadır. Plaklar, **belirgin üreme varlığında** ve inhibisyon zon sınırları **net bir şekilde görülebildiğinde** değerlendirilmelidir!

İnhibisyon zon çaplarının ölçülmesi ve duyarlılık kategorisinin belirlenmesi;

- Hem MHA hem de MHA-F plaklarının okunması için plağın kapağı açılmalı, yansıyan ışık altında ve ön yüzden çıplak gözle okuma gerçekleştirilmelidir.
- Mueller Hinton agar plakları koyu renk zemin üzerinde, MHA-F plakları ise açık renk zemin üzerinde değerlendirilmelidir.
- Keskin zon çapları görülecek şekilde plağa açı verilmelidir. Plak, gözden yaklaşık 30 cm uzakta ve 45° açıyla tutulmalıdır.
- Zon çapları en yakın milimetre değeri üzerinden kaydedilmelidir.
- Keskin kenarı olan zonların içinde görünen zayıf üremeler göz ardı edilmelidir. Bu durum nadiren, *E. coli* ve *K. pneumoniae*'nın erken okumalarında ve sıklıkla beta-laktam antibiyotiklerde görülmektedir. Bazen 4. saat sonunda belirgin bir inhibisyon zonu görülmediği halde 6. saat sonunda zon izlenebilir (**Tablo 13**). Çalışılan tüm antibiyotikler için inkübasyon süresi sonunda inhibisyon zonlarının değerlendirilmesi mümkün olmayabilir.

Tablo 13. 4, 6 ve 8 saatlik inkübasyon sonunda zon çaplarının değerlendirilme oranı

Mikroorganizma	4 saat (%)	6 saat (%)	8 saat (%)
E. coli	90	99	99
K. pneumoniae	96	98	98
P. aeruginosa	-	88	97
A. baumannii	99	100	100
S. aureus	55*	91	95
E. faecalis	93	99	100
E. faecium	44	93	99
S. pneumoniae	68	83	95

* Sefoksitin ve gentamisin kolayca okunduğu halde norfloksasin ve klindamisin zor okunur.

Yöntem doğrulama ve kalite kontrol uygulamaları

EUCAST-HADT kalite kontrol çalışması, temel olarak bu yöntemin laboratuvarda uygulanmaya başlamasından önce yöntem doğrulaması için kullanılmaktadır.

HADT için yöntem doğrulama

- EUCAST-HADT yöntem doğrulama çalışması için kan kültürü şişelerine, 100-200 cfu/mL kalite kontrol suşunu içeren 1 mL solüsyon (0.5 McFarland süspansiyonunun 1:1.000.000 sulandırımı ile hazırlanan) ile birlikte 5 mL steril at kanı veya koyun kanı eklenmelidir. İnoküle edilen şişeler kan kültürü cihazında inkübe edilmeli ve pozitif sinyal alındıktan sonra EUCAST-HADT yöntemi ile işlenmelidir.
- Yöntem kullanılmaya başlandıktan sonra, personel veya ekipman (kan kültürü sistemi, vasat, disk, vb.) değişikliği yapılmadığı sürece, tekrar yöntem doğrulama çalışması yapılmasına gerek yoktur.

ADT için iç kalite kontrol çalışması

- EUCAST, standart DDT prosedürü ve ADT materyallerinin iç kalite kontrol çalışmasının günlük olarak yapılmasını önermektedir.
- Üç kalite kontrol suşunun (*E. coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 29213 ve *S. pneumoniae* ATCC 49619) 4, 6 ve 8. saatte kalite kontrol değerlendirmeleri için ölçütler geliştirilmiştir. Bu ölçütler EUCAST-HADT eşik değer tablolarında yer almaktadır.

İnhibisyon zonları SADECE belirgin üreme olduğunda ve zon kenarları net olarak izlenebildiğinde okunmalıdır.

- Değerlendirmede EUCAST-HADT tabloları kullanılmalıdır.
- İnkübasyon süresi sekiz saatten daha uzun olmamalıdır.

EUCAST-HADT yöntemi ile *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) ve karbapenemaz taraması

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) ve karbapenemaz tarama eşik değerleri halk sağlığı ve enfeksiyon kontrol amaçlarına hizmet etmektedir. Bunlar klinik duyarlılık eşik değerleri **değildir.**

EUCAST-HADT yöntemi ile *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da GSBL taraması için, sefotaksim ve seftazidim zonları 4, 6 ve 8. saatlerde değerlendirilir (**Tablo 14**). Sefotaksim ve seftazidim sonuçları birlikte değerlendirilmeli, tarama sonucu POZİTİF olan mikroorganizmalar rutin fenotipik yöntemler ile doğrulanmalıdır.[3]

EUCAST-HADT yöntemi ile *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz taraması, meropenem eşik değerlerinin 6. ve 8. saatlerde değerlendirilmesiyle gerçekleştirilebilir (**Tablo 15**). Dört saatlik inkübasyon için tarama eşik değeri yoktur. Tarama sonucu POZİTİF olan organizmalar rutin fenotipik doğrulama yöntemleri ile değerlendirilmelidir.[3]

[3] https://www.eucast.org/screening_for_resistance_mechanisms_with_rast/

Tablo 14. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) taraması

Mikroorganizma	Antibiyotik	GSBL doğrulaması yapılması için tarama eşik değerleri (mm)		
		4. saat	6. saat	8. saat
E. coli	Sefotaksim 5 µg	<15	<16	<17
	Seftazidim 10 µg	<15	<16	<17
K. pneumoniae	Sefotaksim 5 µg	<15	<18	<18
	Seftazidim 10 µg	<15	<16	<16

Tablo 15. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz taraması

Mikroorganizma	Antibiyotik	Karbapenemazlar için tarama eşik değerleri (mm)		
		4. saat	6. saat	8. saat
E. coli	Meropenem 10 µg	-	<20	<20
K. pneumoniae	Meropenem 10 µg	-	<18	<19

Kontaminasyon

Pozitif kan kültürlerinin yaklaşık üçte birinde kontaminasyon saptanmaktadır. Kontaminasyona en sık deri mikrobiyotasında yer alan mikroorganizmalar yol açmaktadır. Alınan kan miktarı azaldıkça kontaminasyon oranları artmaktadır. Laboratuvarlar kan kültürü kontaminasyon oranlarını %3'ün altında tutmak için uygun kültür alım tekniklerinin uygulanmasını sağlamalı ve kontaminasyon oranlarını yakından takip ederek gerektiğinde ilgili kişilere/birimlere eğitim vermelidir.

Kan kültürlerinde etken/kontaminant ayrımını yapabilmek için en az iki ayrı damardan alınan kültürlerde aynı etkenin (tür düzeyinde tanımlamasının ve antimikrobiyal duyarlılığının aynı olması kaydıyla) üretilmesi gerekir. Hastanın ilk kültüründe olası bir kontaminant üretildiğinde diğer kültürlerinin sonuçları çıkana kadar izolat saklanmalıdır. Diğer kan kültürü/kültürlerinde aynı etkenin üremesi durumunda her iki izolat için tür düzeyinde tanımlama ve ADT uygulanmalıdır. Tanımlama ve ADT sonuçları aynı olan izolatlar etken olarak kabul edilmeli ve raporlanmalıdır. Tanımlama veya ADT sonucu farklı bulunduğu takdirde izole edilen bakteriler kontaminant olarak değerlendirilmelidir.

Cilt mikrobiyota elemanları dışında geçici kolonizasyon yapabilen bazı mikroorganizmaların (*Acinetobacter* spp., *C. perfringens*, vb.) da uygun cilt antisepsisi yapılmadığı zaman kan kültüründe kontaminasyona neden olabileceği akılda tutulmalıdır.

Kontaminant olarak kabul edilen deri mikrobiyotası üyeleri şunlardır:

- Koagülaz-negatif stafilokoklar
- *Corynebacterium* türleri (*C. jeikeium* hariç)
- *Bacillus* türleri (*B. anthracis* hariç)
- *Micrococcus* türleri
- *Aerococcus* türleri
- *Cutibacterium* türleri

Tutarsız sonuçlar

Pozitif sinyal, Gram boyama pozitif, pasajda üreme yok

Bu durumda *Abiotrophia* türleri (nütrisyonel varyant streptokoklar), vankomisine bağımlı enterokoklar, kısmen otolize olmuş *S. pneumoniae*, rutin katı besiyerlerinde üreyemeyen/güç üreyen bakteriler, *Campylobacter* türleri, *Helicobacter* türleri, kapnofilik mikroorganizmalar ya da yavaş üreyen anaerobik bakteriler akla gelmelidir. Hastanın klinik bulgularına ve mikroskobik özelliklerine göre pasajlar için uygun katkı maddeleri ilave edilmiş besiyerleri kullanılmalı, uygun koşullarda inkübasyon gerçekleştirilmeli, gerektiği takdirde inkübasyon süresi uzatılmalıdır.

Pozitif sinyal, Gram boyama negatif, pasajda üreme yok

Yalancı pozitif sinyal olarak kabul etmeden önce otomatize sistem üzerinden üreme eğrisi incelenmelidir. Yalancı pozitif sinyalin sebebi, eşik değerlerinin çok düşük olması, önerilen maksimum kan miktarının aşılması, test edilen kanın lökosit düzeyinin yüksek olması, vb. olmak üzere genellikle çok nedene bağlıdır. Eğer üreme eğrisi mikrobiyal üremeyi gösteriyorsa Gram boyama yöntemine ek olarak karbol fuksin, Giemsa, akridin oranj gibi farklı bir boyama yöntemi daha kullanılabilir. Bu aynı zamanda kullanılacak olan ek besiyerleri için de yol gösterici olabilir.

BÖLÜM 5

SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE YORUMLANMASI

Sonuçların değerlendirilmesi

Kan kültüründe pozitif sinyal saptandığında değerlendirme süreci aşağıdaki basamakları içerir:

I. Mikroorganizmanın izolasyonu ve tanımlanması

II. Etken/kontaminant ayrımı

- Etken olarak değerlendirilen izolatın tür düzeyinde tanımlanması ve ADT çalışılması
- Kontaminant olarak değerlendirilen izolatın sınırlı tanımlanması

Mikroorganizmanın izolasyonu ve tanımlaması

Laboratuvarın kan kültürü sonuçlarının değerlendirilmesi için standart bir prosedüre sahip olması gerekir. Kan kültürlerinden üretilen izolatlara hangi düzeyde tanımlama yapılacağı bu standart prosedürler çerçevesinde tanımlanmalıdır. Olası kontaminantlar veya önceden üretilmiş/raporlanmış patojenlerin tekrarlayan izolasyonlarında yapılacak tanımlama testleri sınırlı olmalıdır. Laboratuvar, kan kültüründeki olası kontaminantların değerlendirilmesi için bir iş akışı belirlemeli, raporlama için standart bir politika ve prosedür oluşturmalıdır.

Laboratuvar prosedürü şunları içermelidir:

a) Tanımlama testlerinin hangi düzeyde yapılacağı,

b) ADT çalışıl**ma**ması gereken durumlar,

c) Klinisyene yapılması gereken açıklamalar

Kan kültürü sonuçları yorumlanırken şunlara dikkat edilmelidir:

a) Kan kültürü için alınan set sayısı/örnek miktarı

b) Diğer enfeksiyon bölgelerine ait pozitif kültür sonuçları

c) Hasta ile ilgili klinik ve laboratuvar bilgileri

d) Hastanın kan kültürü alınmadan önceki antimikrobiyal kullanımı

e) Hastanın bağışıklık yetmezliğinin düzeyi ve tipi

f) Rutin kültür yöntemleri ile tespit edilemeyen güç üreyen organizmaların sebep olduğu enfeksiyon olasılığı

Etken/kontaminant ayrımı

Kan kültürlerinin değerlendirilmesinde en önemli sorun, etken/kontaminant ayrımının yapılmasıdır.

Kontaminantlar için ADT çalışılmasına gerek yoktur.

Hastanın diğer kan kültürlerinden aynı mikroorganizmanın tekrar izole edilmesi durumunda ileri testlerin çalışılabilmesi için, ilk plaklar diğer kan kültürleri sonuçlanana kadar saklanır. Bu durumda her iki izolata da tür düzeyinde tanımlama ve ADT yapılır.

Kan kültürü kontaminasyonunun değerlendirilmesinde laboratuvara dayalı algoritmanın yanı sıra hastaya ait klinik özelliklerin de değerlendirilmesi önerilmektedir.

Kan kültüründe kontaminasyonun tanımı

Kan kültürü kontaminasyonu tanımında kullanılan ölçütler şunlardır:

- Deri mikrobiyotasında bulunan bir veya birden fazla mikroorganizmanın hastanın birden fazla kan kültürü setinden sadece birinde (örneğin; bir setin bir veya daha fazla şişesinde, iki setin birinde, üç setin birinde) üremesi ve hastanın bu mikroorganizma ile enfeksiyonuna dair klinik veya mikrobiyolojik kanıtın bulun**ma**ması
  - Kan kültürlerinde, potansiyel kontaminant olan aynı mikroorganizmanın izole edilmesi durumunda üremenin ne şekilde yorumlanacağı **Tablo 16**'da verilmiştir.
- İntravasküler kateter kültürleri negatif iken periferik venden alınan kan kültüründe deri mikrobiyota üyesi bakterinin üremesi
- İntravasküler kateter kültürleri ve periferik ven kültürleri pozitif olduğu halde izole edilen bakterilerin birbirinden farklı olması

Tablo 16. İki set kan kültürü alınan bir hastada, kan kültürlerinde aynı olası kontaminant mikroorganizmanın izole edilmesi durumunda üremenin yorumlanması

1. Set		2. Set		Değerlendirme
Aerobik	Anaerobik	Aerobik	Anaerobik	
				Negatif
				Kontaminasyon
				Kontaminasyon
				Etken
				Etken
				Etken
				Etken
				Etken
				Etken
				Etken

Tablodaki **kahverengi** hücreler = üreme var; **bej** hücreler = üreme yok

Aynı set içinde deri mikrobiyota bakterisi üreyen **pozitif şişe sayısı** klinik olarak anlamlı enfeksiyonu öngörmede **güvenilir değildir!**

Kan kültürlerinde, cilt mikrobiyotası bakterilerinin üremesi durumunda **aynı** mikroorganizma demek için izolatların tür düzeyinde tanımlamaları ve antimikrobiyal duyarlılıkları aynı olmalıdır.

Etken/kontaminant ayrımında dikkate alınacak ölçütler

- Üreyen mikroorganizma
- Pozitif kan kültürü seti sayısı
- Üreme süresi
- Klinik ve laboratuvar bulguları
- Kültürün kaynağı (kateter veya perkütan)

Polimikrobiyal bakteriyemi

Kan kültürü şişeleri bir kez pozitif sinyal verdikten sonra tekrar inkübe edilmedikleri için polimikrobiyal üremelerin gerçek insidansını saptamak güçtür. Polimikrobiyal bakteriyemi insidansının %5'in altında olduğu tahmin edilmektedir. Polimikrobiyal bakteriyemi, çocuklarda ve bağışıklık yetmezliği olan hastalarda daha sık görülür. Polimikrobiyal bakteriyemi, bakteriyel translokasyona işaret ederek altta yatan hastalık hakkında fikir verebilir. Kan kültüründeki polimikrobiyal üremeye yaklaşım, tek organizma ürediğindeki gibidir.

İzolatların saklanması

Etken olarak değerlendirilen tüm kan kültürü izolatları, ek çalışmalar için **en az 6 ay** süreyle saklanmalıdır. Olanağı bulunan merkezlerde bu süre daha uzun olabilir.

Olası kontaminant olarak değerlendirilen izolatlar hastanın diğer kan kültürleri sonuçlanana kadar saklanmalıdır.

KİKDE tanısında laboratuvar yaklaşımı

Santral venöz kateter ile ilişkili bakteriyemiler günümüzde SHİE'nin en önemli nedenlerindendir. Damar içi araçların iç ve dış yüzeylerine tutunan başta *S. epidermidis* ve diğer KNS'ler olmak üzere birçok mikroorganizma biyofilm tabakası oluşturabilir. KİKDE tanısında kesin ölçütler bulunmamakla birlikte kateter giriş yerinde pürülan akıntı veya belirgin selülit bulgularının varlığı tanıya yardımcıdır.

Kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarının mikrobiyolojik tanısı için "altın standart" olarak tanımlanmış bir yöntem yoktur, birçok yöntem bu amaçla kullanılmaktadır. KİKDE'nin değerlendirilmesinde seçilecek olan yöntemin belirlenmesi kateterin çıkarılıp çıkarılmaması kararına bağlıdır. Ancak her durumda hem kateterden hem de farklı bir periferik venden olmak üzere iki set kan kültürü alınmalıdır.

C. albicans, A grubu streptokoklar ve Gram-negatif basiller, vb. bazı önemli mikroorganizmaların üremesi durumunda koloni sayısı **<15 cfu** olsa da dikkate alınmalıdır.

Eğer hastada *Malassezia* spp. düşündüren bir durum varsa, bu tür için uygun besiyerleri kullanılmalıdır.

Kantitatif değerlendirme yalnızca KKA besiyerinden yapılmalıdır.

Kateterin çıkartıldığı durumlarda KİKDE tanısı

Kateterin çıkartılması yönünde karar verildiyse; kateter çıkartılmadan önce kateterden ve periferden birer set kan kültürü alınmalıdır. Çıkartılan kateter de kültür için laboratuvara gönderilmelidir. Kateterin kültürü iki şekilde yapılabilir:

I. Semikantitatif kültür (Modifiye Maki Yöntemi): Kateter ucunun semikantitatif kültürü en çok kullanılan yöntemdir. Bu yöntemde aseptik olarak çıkarılan kateterin distalinden kesilerek gönderilen 5 cm'lik kateter segmenti kanlı agar yüzeyinde 4-5 kez ileri geri yuvarlanarak ekim yapılır. İnkübasyon sonunda **>15 cfu** üreme olması ve üreyen mikroorganizmanın periferik kan kültüründekiyle aynı olması KİKDE tanısını destekler. Ancak bu yöntem sadece kateter yüzeyindeki mikroorganizmanın üremesini gösterir.

II. Kantitatif kültür (sonikasyon yöntemi): Kateterin hem dış hem de iç yüzeyindeki mikroorganizmaların saptanmasına olanak sağlar. Kateter segmenti 10 mL sıvı beyin kalp infüzyon besiyerine konulur. Sonikasyon cihazında 1 dk (55.000 Hz ve 125 W) tutulur, sonra 15 sn vortekslenir. Elde edilen süspansiyondan 1:10'luk ve 1:100'lük seri sulandırım yapılır. Her sulandırımdan 0.1 mL alınarak mutlaka KKA besiyerine, tercihen de Gram-negatif bakteriler için seçici bir besiyerine ekilir. Ekimler her gün değerlendirilir. Üremesi olmayan kültürler **72 saat** inkübe edilir. Kantitatif kateter kültüründe **KKA** yüzeyinde **>10^2 cfu** üreme olması ve üreyen mikroorganizmanın periferik kan kültüründekiyle aynı olması KİKDE için tanı koydurucudur. Bu yöntem ile biyofilm içindeki bakteriler serbest bırakılır. Ancak zaman alıcı, zahmetli ve pahalıdır.

Literatürde, yıkama (flushing) ve vorteksleme gibi alternatif yöntemler bulunmakla birlikte, bu yöntemler henüz standardize edilmemiştir.

Kültür sonuçlarının yorumlanması

- Bir veya daha fazla kan kültüründe üreme olması ve aynı etkenin hem periferik kan hem de kateter ucu kültüründen izole edilmesi halinde KİKDE düşünülmelidir.
- Kan kültüründe üreme olmayıp yalnızca kateter ucu kültüründe anlamlı üreme saptanması halinde; kateter kolonizasyonu düşünülmelidir.
- Hem kan kültürleri hem de kateter ucu kültürleri negatif ise KİKDE düşünülmez.

Kateterin korunduğu durumlarda KİKDE tanısı

I. Otomatize kan kültürü sistemlerinin kullanıldığı durumlarda: Biri periferik damardan diğeri kateter lümeni veya port haznesinden olmak üzere en az iki set kan kültürü eş zamanlı veya peş peşe alınır.

Her iki setten ADT sonuçları birbirinin aynı olan aynı tür mikroorganizma izole edilirse ve başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE düşünülebilir.

KİKDE tanısı için;

- İlk üreme kateterden alınan kan kültüründe olmalıdır.
- Periferden alınan kan kültürü ile kateterden alınan kan kültürü pozitifleşme süreleri arasındaki fark en az 120 dakika olmalıdır.
- Üreme süreleri arasındaki farkın 120 dakikadan daha az olması KİKDE tanısını dışlamaz.

Kateterden ve periferden alınan kan **aynı hacimde** olmalıdır.

Kan kültürü şişelerinin üzerine kanın alındığı yer (kateter/perifer) ve alınma zamanı **mutlaka** kaydedilmelidir.

II. Lizis santrifügasyon gibi kantitatif kan kültürüne olanak tanıyan bir yöntem kullanıldığı durumda: Hem kateter hem de periferden alınan kanda üreme olması ve kateterden alınan kanda üreyen koloni sayısının periferden alınan kanda üreyene kıyasla **en az dört kat** daha fazla olması halinde, başka bir enfeksiyon odağı da yoksa, KİKDE düşünülmelidir.

- Eş zamanlı periferik venden alınan kan kültüründe üreme yokken, kateterden alınan kan kültüründe üreme saptanırsa KİKDE açısından yorum yapılamaz. Ancak, kateter kanında >100 cfu/mL bakteri veya >25 cfu/mL mantar üremesi durumunda da KİKDE tanısı konabilir.
- Yalnızca periferik venden alınan kan kültüründe üreme olması halinde; kesin yorum yapılamamakla birlikte, etken *S. aureus* veya *Candida* türleri ise ve başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE düşünülebilir.
- Her iki kan kültürü de negatif olduğunda KİKDE düşünülmez.

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

BÖLÜM 6

KAN/KATETER KÜLTÜRÜ SONUÇLARININ RAPORLANMASI

Kan kültürünün zamanında raporlanması, hastaya uygulanacak tedavi protokolünün belirlenmesinde büyük önem taşır. Özellikle üreme saptanan kan kültürlerinin hem mikroskobik değerlendirme (Gram boyama) hem de kültür sonucu olabildiği kadar hızlı raporlanmalıdır.

Laboratuvarın diğer kliniklerle arasındaki iletişimin düzenlenmesi ve standardizasyonu için kan kültürlerinin raporlanması ile ilgili standart bir prosedür hazırlanmalıdır. Bu prosedürde; Gram boyama sonucu, kritik değer bildirimi ve sonuç raporlarının nasıl, kimler tarafından, kime ve ne zaman bildirileceği yer almalıdır.

Kan kültürlerinde etken olduğu düşünülen bir mikroorganizma ürediğinde kritik değer olarak değerlendirilmeli ve ilgili klinik/hekime derhal bildirilmelidir. Bildirim ister elektronik yolla isterse sözlü olarak yapılsın, mutlaka kayıt altına alınmalıdır:

- Bildirimi yapan kişinin adı soyadı, bildirim saati, verilen bilgi ile bildirim yapılan kişinin unvanı, adı ve soyadı kayıt altına alınmalıdır.
- Sözlü bilgilendirmelerde verilen bilginin *bildirimi alan kişi tarafından tekrarlanması* istenerek bilginin doğru alındığı teyit edilmelidir.

Raporda hastaya ait pozitif olan kan kültürü sayısı ile hastadan gönderilen toplam kan kültürü sayısı **belirtilmelidir!**

- Klinisyenler tarafından yanlış anlaşılma riski olduğu için "*kontaminant*" kelimesinin kullanılmasından kaçınılmalıdır. Bunun yerine;

  "*Bu izolat, cilt mikrobiyota elemanı olabilir. Gerekli görüldüğü takdirde ileri değerlendirme için mikrobiyoloji laboratuvarı ile iletişime geçiniz.*"

  ifadesi kullanılabilir.
- Bir set kan kültürü içinde yer alan iki şişeden birinin ya da ikisinin pozitif olduğunu açıklamak gerekli değildir. Bir set içinde yer alan iki şişenin de pozitif olması kontaminasyon ile gerçek enfeksiyonu birbirinden ayırmaz.

Pozitif kan kültürlerinin raporlanması

Raporda; Gram boyama, üreyen mikroorganizmanın tanımlama ve ADT sonuçları yer almalıdır. Rapor açıklayıcı ve anlaşılır olmalıdır.

Pozitif kan kültürlerinin raporlanması#

İşlem	Sonucun bildirilmesi	Örnek raporlar
Gram boyama	Sonuç raporunda, pozitif kan kültürü şişesinin türü (aerobik, anaerobik, mikotik) ve görülen mikroorganizmanın morfolojisi hakkında ayrıntılı bilgi bulunmalıdır. Eğer yapıldıysa diğer boyama sonuçlarına da raporda yer verilmelidir. **Boyanma özelliği:** Gram-pozitif, Gram-negatif, Gram değişken **Morfoloji:** Basil, kokobasil, kok, pleomorfik basil, filamentöz basil, fuziform basil, maya, yalancı hif/hif vb. **Dizilim:** Diplokok, stafilokok benzeri kümelenme, streptokok benzeri zincir vb.	– Gram-negatif *kokobasil* yerine; "İnce Gram-negatif kokobasil" – Gram-pozitif *kok* yerine; "Küme yapmış Gram-pozitif koklar. Stafilokok türleri olabilir." ya da "İkili ya da zincir yapmış Gram-pozitif koklar. Streptokok türleri olabilir." – Gram-pozitif *basil* yerine; "Zincir yapmış kalın Gram-pozitif basiller görüldü, spor görülmedi" – "Maya hücreleri ve yalancı hif yapıları görüldü" – "Hif yapıları görüldü"
Tanımlama sonucu	Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında mikroorganizma tanımlama testleri sıklıkla duyarlılık testinden önce sonuçlanır. Bu durumda mikroorganizma tanısı, ADT sonucu beklenmeden ara rapor ile kliniğe bildirilmelidir. ADT sonucunun tanımlamadan önce çıkması durumunda;"Gram-negatif basil üremiştir. İzolatın tür düzeyinde tanımlaması devam etmektedir" vb. ifadeyle ADT sonucu ara rapor ile kliniğe bildirilmelidir. Kan kültürü şişelerinde üretilen anaerobik bakteriler, çalışılan Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarının koşullarına bağlı olarak gerçekleştirilebilen anaerobik bakteri tanımlama basamağı düzeyine göre hasta sonuç raporunda yer almalıdır. Anaerobik bakteri tanımlama sistemi bulunmayan laboratuvarlarda, anaerobik şişeden çikolata agara ve tiyoglikolatlı besiyerlerine pasaj yapılır. Çikolata agar besiyerinde üreme olmayıp, tiyoglikolatlı besiyerinde üreme saptanması durumunda üreyen mikroorganizmanın anaerobik bakteri olduğuna karar verilir ve sonuç raporu Gram boyama morfolojisine göre bildirilir.	Tür düzeyinde tanımlama yapabilen merkezler için; – "*Bacteroides fragilis* üredi." – "*Finegoldia magna* üredi." Geleneksel yöntemlerle tanımlama yapabilen merkezler için; – "*Bacteroides fragilis* grubu bakteri üredi." – "*Prevotella* cinsinde bakteri üredi." Anaerobik bakteri tanımlama sistemi bulun**ma**yan merkezler için; – "Gram-pozitif zincir yapmış kok morfolojisinde anaerobik bakteri üredi." / (Anaerobik kültür sistemi olmadığı için ileri tanımlama işlemi yapılamamıştır.) – "Pleomorfik, soluk boyanan, Gram-negatif basil morfolojisinde anaerobik bakteri üredi." / (Anaerobik kültür sistemi olmadığı için ileri tanımlama işlemi yapılamamıştır.) – "Gram-pozitif kok morfolojisinde anaerobik bakteri üredi." / (Anaerobik kültür sistemi olmadığı için ileri tanımlama işlemi yapılamamıştır.) – "Sporlu, Gram-pozitif basil morfolojisinde anaerobik bakteri üredi." / (Anaerobik kültür sistemi olmadığı için ileri tanımlama işlemi yapılamamıştır.) – "Sporsuz, Gram-pozitif basil morfolojisinde anaerobik bakteri üredi." / (Anaerobik kültür sistemi olmadığı için ileri tanımlama işlemi yapılamamıştır.)
ADT sonucu	ADT sonucu tamamlandıktan sonra yazılan son raporda; set sayısı, sette yer alan şişe sayısı ve şişe türleri (aerobik, anaerobik), şişelerdeki üreme saati ile örneğin alındığı bölgenin (santral venöz kateter veya sağ/sol kol vb.) yer alması önerilir.	

KİKDE düşünülen hastalara ait örneklerin tanımlama ve ADT sonuçlarının raporlanması "Pozitif Kan Kültürlerinin Raporlanması"nda anlatıldığı şekilde (bu tabloda özetlenmiş olduğu gibi) yapılmalıdır. Raporda ayrıca, KİKDE olasılığını gösteren bilgilere yer verilmelidir.

Kontaminasyon olduğu düşünülen kan kültürlerinin raporlanması

Raporda kontaminasyon olduğu düşünülen etkenin ürediği set, setteki şişe sayısı ve türü, üreme süresi ile örneğin alındığı yer (santral venöz kateter veya sağ/sol kol gibi) yazılması önerilir. Rapor "Bu izolat deri mikrobiyota üyesi olabilir, gerekli görüldüğü takdirde ileri değerlendirme için mikrobiyoloji laboratuvarı ile iletişime geçiniz" şeklinde düzenlenmelidir. Mümkün olduğunca "kontaminasyon" ifadesinin kullanımından kaçınılmalıdır. Bu şekilde raporlama klinisyenin yanlış anlamasını engelleyebilir. Daha önce olası kontaminant olduğu düşünülen bakterilerin aynı hastadan alınan başka kan kültürlerinde de üremesi durumunda her izolat tür düzeyinde tanımlanmalı, ADT çalışılmalı ve raporlanmalıdır. Bu durumda kan kültürünün raporlanması, **Tablo 17**'de verilen örnekler doğrultusunda yapılır.

Kan kültüründe kontaminasyon olma olasılığı bulunan küf mantarlarının üremesi durumunda, klinisyen ile görüşülüp, klinik bilgi alındıktan sonra "kontaminasyon" kararı verilmelidir. Bu hasta grupları bağışıklık yetmezliği olan sorunlu hastalardır ve her türlü fırsatçı enfeksiyona yatkınlık gösterirler. Olası bir fungemi şüphesi varsa ardışık kan kültürü istenmesi gereklidir. Bu kan kültürlerinde de aynı mantarın üremesi durumunda kontaminasyondan uzaklaşılır.

Tek set kan kültürü geldiğinde üreyen mikroorganizma deri mikrobiyota üyesi ise, ikinci set kan kültürü olmadığı için laboratuvar tarafından **etken/kontaminant ayrımı yapılamaz.**

Tablo 17. Kan kültürü setlerinde olası kontaminant mikroorganizma üremesi saptanan şişelere göre örnek raporlar

Değerlendirme	Örnek raporlama
Kontaminasyon	Eş zamanlı gönderilen iki set kan kültürünün birinde …….. (mikroorganizma adı) üremiştir (Üreme süresi: …..) Eş zamanlı gönderilen diğer kan kültürü/kültürlerinin inkübasyonu devam etmektedir *veya* üreme olmamıştır. Bu izolat, deri mikrobiyotasından kaynaklanmış olabilir, klinik olarak anlamlı kabul ediliyor ise, ileri tanımlama ve ADT için 24 saat içinde tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarı ile iletişime geçiniz.
Etken	Eş zamanlı gönderilen iki set kan kültüründe …….. (mikroorganizma adı) üremiştir. (Üreme süresi: …..) * ADT ile birlikte raporlanır.

Üreme olmayan kan kültürlerinin raporlanması

Alınan kan miktarının yetersizliği, kan kültürü şişelerinin belirlenen süreden daha uzun bir sürede laboratuvara ulaştırılması gibi **üremeyi engelleyebilecek bir durum** söz konusu ise ve bu bilgi kayıtlarda da mevcut ise raporda bu durum **açıklanmalıdır.**

İnkübasyon süresi sonunda üreme olmayan kan kültürü örneklerinin raporunda set sayısı, sette yer alan şişe sayısı, üreme olmayan şişe sayısı ve şişe türleri (aerobik, anaerobik) ile örneğin alındığı yer (santral venöz kateter veya sağ/sol kol gibi) bilgilerinin yer alması önerilir.

Örnek: "Eş zamanlı gönderilen iki set kan kültüründe beş günlük inkübasyon sonunda üreme olmamıştır."

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

BÖLÜM 7

KAN KÜLTÜRÜ KALİTE KONTROLÜ

Kan kültürünün yöntem doğrulaması (verifikasyonu)

Kalite standartlarına göre; testlerin ve test sistemlerinin, hasta örneklerinde çalışılması ve sonuçlarının raporlanmasından önce, üreticinin bildirdiği performans özellikleri yönünden doğrulamasının (verifikasyonunun) yapılması gerekmektedir.

Yöntem doğrulama (verifikasyon) çalışması; testin özellikleri, tespit edilen mikroorganizmalar, laboratuvarın hizmet verdiği hastaların özellikleri göz önüne alınarak dikkatle planlanmalıdır. Doğrulama yöntemi, doğrulamada kullanılan hasta örnekleri, uygulama yöntemi ve değerlendirme yöntemi için bir prosedür oluşturulmalı ve sonuçlar kayıt edilmelidir.

Yöntem doğrulama çalışmasının sonuçları üç olasılıktan birini gösterir:

1. Test rutin kullanım için kabul edilebilir performansa sahiptir. Testin rutin kullanımına başlanabilir.
2. Doğrulama çalışmasının sürdürülmesine ihtiyaç vardır.
3. Kullanıcı, üretici veya her ikisini kapsayan düzeltici faaliyetler gereklidir. Testin performans özellikleri doğrulanıncaya kadar rutin kullanımı uygun değildir.

Otomatize kan kültürü sistemlerinin laboratuvarda hasta örneklerinin çalışılmasında kullanılmasından önce yöntem doğrulamasının yapılması oldukça güçtür.

Laboratuvarda kullanılmakta olan kan kültürü sistemi ile yeni kurulacak kan kültürü sisteminin paralel olarak test edilmesi için her hastadan ilave kan alınması gerekir. Bunu yapmak her kurum ve her hasta için mümkün değildir. Kan kültürlerindeki pozitiflik oranlarının düşük olması (genellikle %8-14) nedeniyle iki ayrı sistem için örnek toplanıp karşılaştırılsa bile, anlamlı sonuçlar elde edilemeyebilir. Kontaminasyon oranlarının yüksek olması ve bazı mikroorganizmaların daha sık izole ediliyor olması gibi nedenlerle değerlendirme, hedeflenen mikroorganizmaların küçük bir kısmı ile sınırlı kalabilir.

Laboratuvara yeni kurulacak olan bir kan kültürü sisteminin yöntem doğrulaması için yapılacak çalışma şu iki soruya yanıt oluşturacak şekilde planlanmalıdır:

- Kan kültürü şişelerinde kullanılan besiyerleri hastalarda sıklıkla tespit edilen organizmaların (mayalar, anaerobik bakteriler, yavaş üreyen bakteriler dâhil olmak üzere) üremesini sağlamakta mıdır?
- Kan kültürü şişelerinde üreyen mikroorganizmalar sistem tarafından zamanında tespit edilmekte midir?

Kan kültürü sistemlerinin doğrulaması için iki yöntem önerilmektedir. Laboratuvarlar önerilen yöntemlerin güçlü yönlerini dikkate alarak, birleştirilmiş bir yöntem de kullanabilirler (*örneğin;* sık izole edilen patojenler için paralel çalışma yapılması; daha nadir görülen patojenler için inokülasyon yönteminin kullanılması gibi).

Kullanılmakta olan test sistemlerinin (cihaz, yazılım, vb.) yeni versiyonlarının uygulamaya girmesi durumunda yeni versiyondaki değişiklikler değerlendirilmeli, doğrulama çalışmasına ihtiyaç olup olmadığına karar verilmelidir. Değişiklikler kan kültürü sisteminin cihaz ve yazılım kısımları ile ilişkili ise ve kan kültürü şişelerinde değişiklik yoksa, firma yetkili servisi tarafından cihaz fonksiyonlarının kontrol edilmesi ve bunun kayıtlarının oluşturulması; değişikliğin doğrulanması için yeterli olabilir. İnkübasyon koşulları, optik sistemler ve yazılımın üreticinin belirlediği standartlara uygunluğu kontrol edilmelidir.

İnokülasyon ile yöntem doğrulaması

- Laboratuvarda, rutinde saptanan kan kültürü izolatlarını temsil eden minimum 20 izolat seçilmelidir. Laboratuvarın şartlarına uygun olarak Gram-pozitif, Gram-negatif bakteriler ve mayalar dâhil edilmelidir. Mümkün olduğunca stok suş kökenleri yerine doğrudan hasta izolatları kullanılmalıdır.
- Her bir kan kültürü şişesi seçilen bir tür ile inoküle edilmelidir.
- Her bir şişeye üreticinin önerdiği en düşük hacimde steril, antibiyotik içermeyen insan kanı eklenmelidir.
- Her bir şişeye eklenen organizma sayısı, bakteriyemide kanda bulunması olası, en düşük sayıya (<1 cfu/mL) karşılık gelecek şekilde ayarlanmalıdır. Bunun için kan kültürü şişesine eklemeden önce, organizmanın seri sulandırımları hazırlanmalıdır.

Bunun için örnek işlem basamakları:

1. Her mikroorganizmanın steril serum fizyolojik (SF) veya steril buyyon içinde 0.5 McFarland standardı bulanıklığında süspansiyonu hazırlanır.
2. Her birinde 10 mL SF veya steril buyyon bulunan üç ilave tüp hazırlanır. Ana süspansiyondan 100 µL alınır, birinci tüpe aktarılır; karıştırılır; seri sulandırım ile diğer iki tüpte işleme devam edilir. Son tüpteki mikroorganizma konsantrasyonu 100 mikrolitrede 5-30 cfu olmalıdır.
3. Son tüpteki süspansiyondan 0.1 mL alınarak kan kültürü şişelerine inoküle edilir. Mikroorganizma kantitasyonunu doğrulamak için eş zamanlı olarak uygun besiyerine pasaj yapılır.
4. İnokülasyon yapılan şişeler üreme varlığı ve üreme süresi yönünden takip edilir.

Tüm izolatların üretici tarafından beyan edilen sürede saptanması durumunda kan kültürü sisteminin yöntem doğrulaması yapılmış olur.

Pozitifleşme süresinin test edilen organizmalar için bilimsel yayınlarda bildirilen sürelerle uyumlu olduğu da doğrulanmalıdır.

Mikroorganizmaların tespit edilmesi ile ilgili uygunsuzluk olduğunda testlerin aynı hasta izolatları ile tekrarlanması gereklidir. Uygunsuz sonuçlar sürerse, sistemin laboratuvarda kullanımından önce kullanıcı ve/veya üretici tarafından düzeltici faaliyetler gerçekleştirilir ve yöntem doğrulama çalışması tekrarlanır.

Klinik yönden önemli bakteri ve mayaların en az %95'inin **en geç üç günde** tespit edilmiş olması beklenir.

Paralel kan kültürü ile yöntem doğrulaması

Paralel kan kültürü yapılması, yeni kurulacak sistemin gerçek laboratuvar ve hasta şartlarında tüm yönleri ile değerlendirilmesi açısından daha avantajlıdır. Kan kültürü sisteminin doğrulaması için bu yöntem tercih edilirse, uygun hastalardan toplanan kanın mevcut ve denenen sisteme eşit hacimlerde, her iki sistemin de kan kültürü şişelerine alınması sağlanır.

Bu uygulama, kontaminantları dışarıda tutarak, en az 20 pozitif kan kültürü sonucu elde edilinceye kadar sürdürülmelidir. Pozitif sonuçların da normalde laboratuvarın tespit ettiği izolatları temsil etmesi önemlidir.

Laboratuvarda kurulu olan sistem referans alındığında yeni sistemin duyarlılığı en az %95 ve her iki sistemin organizmaları tespit etme süreleri benzer ise, yeni kan kültürü sisteminin doğrulaması sağlanmıştır.

Sonuç olarak; doğrulama çalışmasında yeni kan kültürü sistemi beklenen performans gerekliliklerini karşılamazsa;

- Kullanımından vazgeçilmeli veya
- Kullanıcı ve/veya üretici tarafından düzeltici faaliyetler gerçekleştirilmeli ve doğrulama çalışması tekrarlanmalıdır.

Kalite göstergelerinin izlenmesi

Kan kültürü çalışmasında; hastanın değerlendirilmesi, test seçimi, örneğin alınması, taşınması, laboratuvara teslim edilmesi, laboratuvarda kabulü, cihaza yerleştirilmesi, pozitif kan kültürünün kliniğe bildirimi, mikroorganizma tanımlaması, ADT yapılması ve sonucun rapor edilmesi aşamalarının her birinde birçok prosedür uygulanmaktadır. Bu işlemlerin her basamağında kalite kontrol çalışması yapılması ve takip edilmesi gerekmektedir (**Şekil 2**).

Bu basamaklardan laboratuvar kalite yönetim sistemi içerisinde gösterge olarak kullanılabilecek parametreler ve form örnekleri aşağıda yer almaktadır.

Gösterge takip formu örneklerinde göstergenin tanımı, amacı, hesaplama yöntemi, veri kaynağı, veri analiz periyodu, sorumlular ve sonuçların paylaşılabileceği kişiler belirtilmiştir. Göstergelerin kullanımı için kurumların gerekli ise *alt göstergeleri* belirlemesi, veri kaynağının nasıl kullanılacağı ve verilerin nasıl toplanacağını, verilerin sonuçlara dönüştürülmesi, sonuçların analizi ve yorumlanması, gösterge hedeflerinin belirlenmesi, gerekirse iyileştirme çalışmalarının yapılması aşamalarını tanımlamaları gerekmektedir.

Alt gösterge, ana gösterge ile ilişkili analizlerin yorumlanmasını ve sorunların kök nedenlerine ulaşılmasını kolaylaştıran ek göstergelerdir. Gösterge takibi sırasında sonucu yorumlayabilmek ve gerekirse kök neden analizi yapabilmek için ek bilgi ve veriye ihtiyaç duyuluyorsa alt göstergeler oluşturulur ve hedef değerleri belirlenir.

Veri toplama yöntemi, veri kaynağı göstergede yer almalıdır. Göstergenin türüne göre veri toplama yöntemi değişebilir. Ancak bilgi yönetim sistemi üzerinden düzenlenmesi ek iş yükünü azaltacağı gibi veri analizini kolaylaştıracaktır. Bazı göstergelerde elde edilen veri doğrudan göstergenin sonucudur, bazı göstergelerde ise hesaplama yönteminde belirtilen formüle göre hesaplama yapılması gerekir. Gösterge sonucunun analizinde göstergenin amacına ve belirlenen hedefe ulaşıp ulaşmadığı değerlendirilir.

Hedef değer, kurum tarafından mevcut durum ve iyileştirme potansiyeli göz önünde bulundurularak belirlenen, ulaşılması amaçlanan tahmini gösterge sonucudur. Ölçme ve iyileştirme çalışmalarının en kritik aşamalarından birisi hedef değer belirlenmesidir. Hedef değer belirlenirken kurumun mevcut durumu incelenmelidir. Ayrıca ulusal veya uluslararası literatürde yer alan bilgilerden de yararlanılabilir. Yoksa son altı aydaki veriler analiz edilerek hedef değerler belirlenir.

Elde edilen analiz sonuçları hedef değerden olumsuz yönde sapma gösteriyorsa bunun nedenini ortaya çıkarmak için *kök neden analizi* yapılır. Olumsuz sonucun düzeltilmesi için iyileştirme faaliyetleri gerçekleştirilir.

Kalite göstergeleri ile ilgili ayrıntılı bilgiye Sağlık Bakanlığının "Sağlıkta Kalite Standartları, Gösterge Yönetimi Rehberi"nden[4] ulaşılabilir.

1. Kan kültürlerinde kontaminasyon oranı (GKG91)

Amaç: Kan kültüründe kontaminasyonun önlenmesi

Hesaplama yöntemi: *İlgili dönemde;* (Kontaminasyon tespit edilen kan kültürü şişe sayısı **/** Toplam kan kültürü şişe sayısı) **X** 100 **=** Kontaminasyon oranı*

** Literatürde bu oranın %3'ün altında olması önerilmektedir.*

2. Kan kültürlerinde direkt Gram boyama ve son tanımlama uyum oranı (GKG92)

Amaç: Kan kültüründe Gram boyama ile son tanımlama arasındaki uyumu artırmak

Hesaplama yöntemi: *İlgili dönemde;* (Paydada yer alan kan kültürleri içerisinde, direkt Gram boyama ile son tanımlama arasında uyum tespit edilen kan kültürü şişe sayısı **/** Bakteri-mantar üremesi tespit edilen kan kültürü şişe sayısı) **X** 100

3. Kan kültüründe pozitif sonuç oranı (GKG93)

Amaç: Doğru endikasyonla kan kültürü alınmasını sağlamak

Hesaplama yöntemi: *İlgili dönemde;* (Pozitif kan kültürü [etken kabul edilen] şişe sayısı **/** Toplam kan kültürü şişe sayısı) **X** 100 **=** Pozitif sonuç oranı*

** Literatürde bu oran %6-12 olarak önerilmektedir. Elde edilen oranın daha düşük çıkması çok fazla kan kültürü alındığına işaret eder. Daha yüksek çıkması yetersiz sayıda kan kültürü alındığını gösterir.*

4. İki ve üzeri set kan kültürü alınma oranı (GKG94)

Amaç: Kan kültürünün doğru miktarda/sayıda alınmasını sağlamak

Hesaplama yöntemi: *İlgili dönemde;* (İki ve üzeri set kan kültürü alınan [24 saat içerisinde] hasta sayısı **/** Toplam kan kültürü alınan hasta sayısı) **X** 100

5. Tek şişe alınan kan kültürü seti oranı (GKG95)

Amaç: Kan kültürünün doğru miktarda/sayıda alınmasını sağlamak

Hesaplama yöntemi: *İlgili dönemde;* (Tek şişe alınan toplam kan kültürü seti sayısı **/** Toplam kan kültürü seti sayısı) **X** 100

* Alt gösterge olarak çocuk, yenidoğan ve yetişkin servislerinin ayrı ayrı takibi önerilir

[4] Sürüm 2.1; Ankara, Temmuz 2020) ISBN: 978-975-590-770-3; Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1175
https://shgmkalitedb.saglik.gov.tr/Eklenti/40208/0/sks-gosterge-yonetimi-rehberi-04032021-1pdf.pdf

6. Alındıktan sonra iki saat içinde laboratuvara teslim edilmeyen kan kültürü seti oranı (GKG 96)

Amaç: Kan kültüründe yalancı negatifliğin önlenmesi

Hesaplama yöntemi: *İlgili dönemde;* (Alındıktan sonra iki saat içinde laboratuvara teslim edilmeyen kan kültürü seti sayısı / Toplam kan kültürü seti sayısı) **X** 100

Önerilen hedef değer: 0

7. Kan kültüründe yalancı pozitiflik oranı (GKG 97)

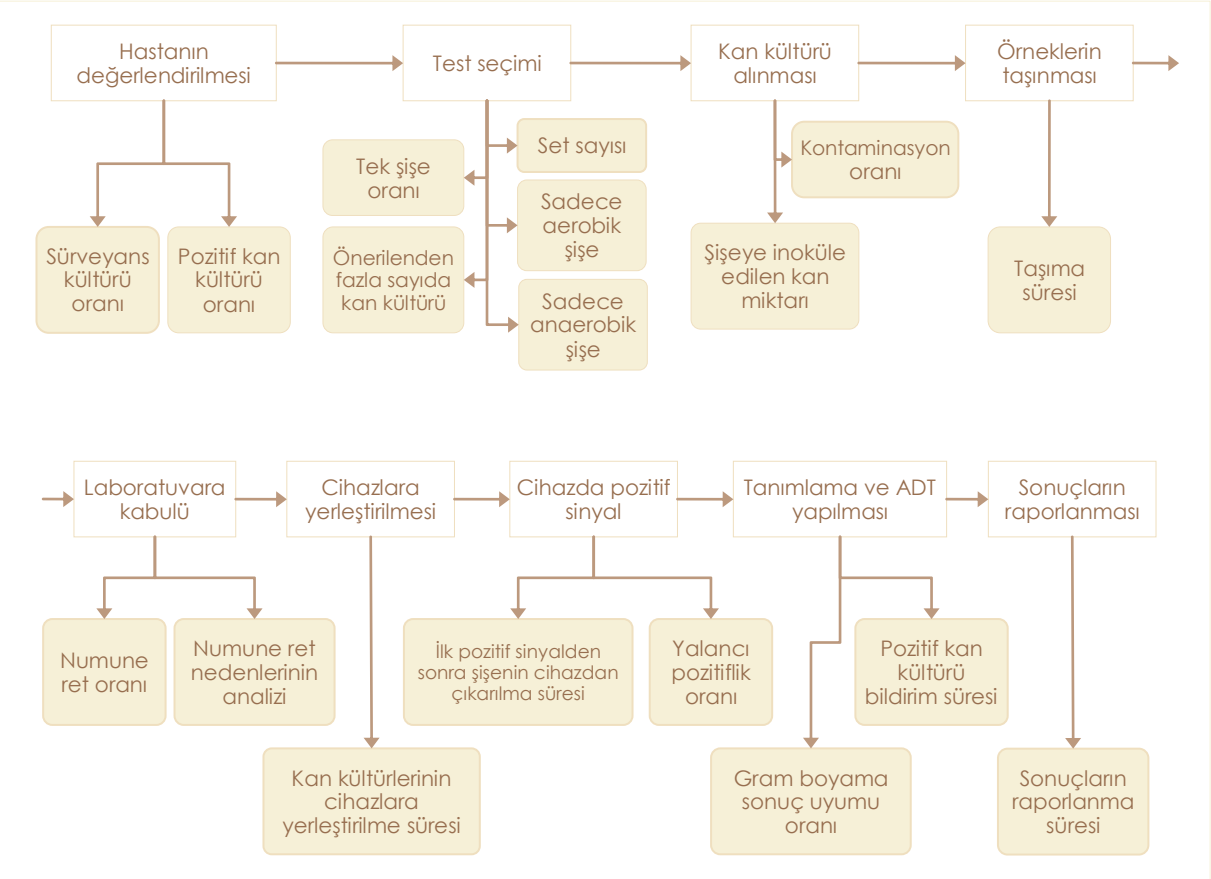
Amaç: Kan kültürü sisteminin denetimi

Hesaplama yöntemi: *İlgili dönemde;* (Toplam yalancı pozitif [pozitif sinyal var, Gram boyamada mikroorganizma görülmemesi ve kültürde üreme olmaması durumu] kan kültürü şişe sayısı / Toplam kan kültürü şişe sayısı) **X** 100

8. Pozitif sinyal anı ile bildirim anı arasında geçen ortalama süre (GKG 98)

Amaç: Enfeksiyon kontrolüne katkıda bulunmak

Hesaplama yöntemi: *İlgili dönemde;* Kan kültürünün pozitif sinyal anı ile ilgili kişiye bildirim yapılması arasındaki süre farklarının toplamı / Bildirilen pozitif kan kültürü sonuç sayısı



Şekil 2. Kan kültürü çalışmasında kalite kontrol noktaları

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

EKLER

Ek 1 - Gösterge takip formu örnekleri

FORM 1 - Kan kültürlerinde kontaminasyon oranı formu

Kan kültürlerinde kontaminasyon oranı		Revizyon No	
		İlk Yayın Tarihi	
		Revizyon Tarihi	
		Sayfa No	
		Doküman No	
GÖSTERGE KODU	**GKG91**		
TARİH			
GÖSTERGE TANIMI	Laboratuvara kabul edilen kan kültürü şişelerinde kontaminasyon sıklığının değerlendirilmesi		
AMAÇ	Kan kültüründe kontaminasyonun önlenmesi		
HESAPLAMA YÖNTEMİ	*İlgili dönemde;* (Kontaminasyon tespit edilen kan kültürü şişe sayısı / Toplam kan kültürü şişe sayısı) X 100		
ALT GÖSTERGELER			
VERİ KAYNAĞI	Kan kültürü kayıt defteri, otomasyon sistemi kayıtları Kan kültürü gönderilen hastanın bilgileri (Enfeksiyon kontrol komitesi [EKK] kayıtları)		
HEDEF DEĞER	<%3		
VERİ ANALİZ PERİYODU	3 ay		
SORUMLULAR	Mikrobiyoloji laboratuvarı sorumlu uzmanı ve sorumlu laborant		
SONUÇLARIN PAYLAŞILACAĞI KİŞİLER	Kalite birimi		
DİKKAT EDİLECEK KONULAR			

FORM 2 - Kan kültürlerinde direkt Gram boyama ve son tanımlama uyum oranı formu

Kan kültürlerinde direkt Gram boyama ve son tanımlama uyum oranı		Revizyon No	
		İlk Yayın Tarihi	
		Revizyon Tarihi	
		Sayfa No	
		Doküman No	
GÖSTERGE KODU	**GKG92**		
TARİH			
GÖSTERGE TANIMI	Kan kültürlerinde, Gram boyama sonucu ile son tanımlama arasındaki uyumun değerlendirilmesi		
AMAÇ	Kan kültürü Gram boyama sonuçlarının güvenilirliğini arttırmak		
HESAPLAMA YÖNTEMİ	*İlgili dönemde;* (Paydada yer alan kan kültürleri içerisinde, direkt Gram boyama ile son tanımlama arasında uyum tespit edilen kan kültürü şişe sayısı / Bakteri-Mantar üremesi tespit edilen kan kültürü şişe sayısı) X 100		
ALT GÖSTERGELER			
VERİ KAYNAĞI	Kan kültürü kayıt defteri, otomasyon sistemi kayıtları		
HEDEF DEĞER			
VERİ ANALİZ PERİYODU	3 ay		
SORUMLULAR	Mikrobiyoloji laboratuvarı sorumlu uzmanı ve sorumlu laborant		
SONUÇLARIN PAYLAŞILACAĞI KİŞİLER	Kalite birimi		
DİKKAT EDİLECEK KONULAR			

FORM 3 - Kan kültüründe pozitif sonuç oranı formu

Kan kültüründe pozitif sonuç oranı		Revizyon No	
		İlk Yayın Tarihi	
		Revizyon Tarihi	
		Sayfa No	
		Doküman No	
GÖSTERGE KODU	**GKG93**		
TARİH			
GÖSTERGE TANIMI	Endikasyonu bulunan hastada pozitif kan kültürü oranının hesaplanması		
AMAÇ	Doğru endikasyonla kan kültürü alınmasını sağlamak		
HESAPLAMA YÖNTEMİ	*İlgili dönemde;* (Pozitif kan kültürü [etken kabul edilen] şişe sayısı / Toplam kan kültürü şişe sayısı) X 100		
ALT GÖSTERGELER			
VERİ KAYNAĞI	Kan kültürü kayıt defteri, otomasyon sistemi kayıtları		
HEDEF DEĞER	%6-12		
VERİ ANALİZ PERİYODU	3 ay		
SORUMLULAR	Mikrobiyoloji laboratuvarı sorumlu uzmanı ve sorumlu laborant		
SONUÇLARIN PAYLAŞILACAĞI KİŞİLER	Kalite Birimi		
DİKKAT EDİLECEK KONULAR			

FORM 4 - İki ve üzeri set kan kültürü alınma oranı formu

İki ve üzeri set kan kültürü alınma oranı		Revizyon No	
		İlk Yayın Tarihi	
		Revizyon Tarihi	
		Sayfa No	
		Doküman No	
GÖSTERGE KODU	**GKG94**		
TARİH			
GÖSTERGE TANIMI	Bir epizotta alınan set sayısının belirlenmesi		
AMAÇ	Kan kültürünün doğru miktarda alınmasını sağlamak		
HESAPLAMA YÖNTEMİ	*İlgili dönemde;* (İki ve üzeri set kan kültürü alınan [24 saat içerisinde] hasta sayısı / Toplam kan kültürü alınan hasta sayısı) X 100		
ALT GÖSTERGELER			
VERİ KAYNAĞI	Kan kültürü kayıt defteri, otomasyon sistemi kayıtları		
HEDEF DEĞER			
VERİ ANALİZ PERİYODU	3 ay		
SORUMLULAR	Mikrobiyoloji laboratuvarı sorumlu uzmanı ve sorumlu laborant		
SONUÇLARIN PAYLAŞILACAĞI KİŞİLER	Kalite birimi		
DİKKAT EDİLECEK KONULAR			

FORM 5 - Tek şişe alınan kan kültürü seti oranı formu

Tek şişe alınan kan kültürü seti oranı		Revizyon No	
		İlk Yayın Tarihi	
		Revizyon Tarihi	
		Sayfa No	
		Doküman No	
GÖSTERGE KODU	**GKG95**		
TARİH			
GÖSTERGE TANIMI	Tek şişe kan kültürü alınma oranının belirlenmesi		
AMAÇ	Kan kültürünün doğru miktarda alınmasını sağlamak		
HESAPLAMA YÖNTEMİ	*İlgili dönemde;* (Tek şişe alınan toplam kan kültürü seti sayısı / Toplam kan kültürü seti sayısı) X 100		
ALT GÖSTERGELER			
VERİ KAYNAĞI	Kan kültürü kayıt defteri, otomasyon sistemi kayıtları		
HEDEF DEĞER			
VERİ ANALİZ PERİYODU	3 ay		
SORUMLULAR	Mikrobiyoloji laboratuvarı sorumlu uzmanı ve sorumlu laborant		
SONUÇLARIN PAYLAŞILACAĞI KİŞİLER	Kalite Birimi		
DİKKAT EDİLECEK KONULAR			

FORM 6 - Alındıktan sonra 2 saat içinde laboratuvara teslim edilmeyen kan kültürü seti oranı formu

Alındıktan sonra iki saat içinde laboratuvara teslim edilmeyen kan kültürü seti oranı		Revizyon No	
		İlk Yayın Tarihi	
		Revizyon Tarihi	
		Sayfa No	
		Doküman No	
GÖSTERGE KODU	**GKG 96**		
TARİH			
GÖSTERGE TANIMI	Hastadan alındıktan sonra 2 saat içinde laboratuvara teslim edilmeyen kan kültürü oranının belirlenmesi		
AMAÇ	Kan kültüründe yalancı negatifliğin önlenmesi		
HESAPLAMA YÖNTEMİ	*İlgili dönemde;* (Alındıktan sonra iki saat içinde laboratuvara teslim edilmeyen kan kültürü seti sayısı / Toplam kan kültürü seti sayısı) X 100		
ALT GÖSTERGELER			
VERİ KAYNAĞI	Otomasyon sistemi kayıtları		
HEDEF DEĞER			
VERİ ANALİZ PERİYODU	3 ay		
SORUMLULAR	Mikrobiyoloji laboratuvarı sorumlu uzmanı ve sorumlu laborant		
SONUÇLARIN PAYLAŞILACAĞI KİŞİLER	Kalite birimi		
DİKKAT EDİLECEK KONULAR			

FORM 7 - Kan kültüründe yalancı pozitiflik oranı formu

Kan kültüründe yalancı pozitiflik oranı		Revizyon No	
		İlk Yayın Tarihi	
		Revizyon Tarihi	
		Sayfa No	
		Doküman No	
GÖSTERGE KODU	**GKG 97**		
TARİH			
GÖSTERGE TANIMI	Kan kültürü yalancı pozitiflik oranının belirlenmesi		
AMAÇ	Kan kültürü sisteminin denetimi		
HESAPLAMA YÖNTEMİ	*İlgili dönemde;* (Toplam yalancı pozitif [pozitif sinyal var, Gram boyamada mikroorganizma görülmemesi ve kültürde üreme olmaması durumu] kan kültürü şişe sayısı / Toplam kan kültürü şişe sayısı) X 100		
ALT GÖSTERGELER			
VERİ KAYNAĞI	Kan kültürü kayıt defteri, otomasyon sistemi kayıtları		
HEDEF DEĞER			
VERİ ANALİZ PERİYODU	3 ay		
SORUMLULAR	Mikrobiyoloji laboratuvarı sorumlu uzmanı ve sorumlu laborant		
SONUÇLARIN PAYLAŞILACAĞI KİŞİLER	Kalite birimi		
DİKKAT EDİLECEK KONULAR			

FORM 8 - Pozitif sinyal anı ile bildirim anı arasında geçen ortalama süre formu

Pozitif sinyal anı ile bildirim anı arasında geçen ortalama süre		Revizyon No	
		İlk Yayın Tarihi	
		Revizyon Tarihi	
		Sayfa No	
		Doküman No	
GÖSTERGE KODU	**GKG 98**		
TARİH			
GÖSTERGE TANIMI	Pozitif sinyal veren şişenin kritik değer bildirim süresinin analizi		
AMAÇ	Enfeksiyon kontrolüne katkıda bulunmak		
HESAPLAMA YÖNTEMİ	*İlgili dönemde;* Kan kültürünün pozitif sinyal anı ile ilgili kişiye bildirim yapılması arasındaki süre farklarının toplamı / Bildirilen pozitif kan kültürü sonuç sayısı		
ALT GÖSTERGELER			
VERİ KAYNAĞI	Kan kültürü kayıt defteri, otomasyon sistemi kayıtları		
HEDEF DEĞER			
VERİ ANALİZ PERİYODU	3 ay		
SORUMLULAR	Mikrobiyoloji laboratuvarı sorumlu uzmanı ve sorumlu laborant		
SONUÇLARIN PAYLAŞILACAĞI KİŞİLER	Kalite birimi		
DİKKAT EDİLECEK KONULAR			

Ek 2 - Kan kültürü alma işlemi kontrol listesi

Kontrol Listesi	Onay
Kan kültürü istemi kontrol edildi	
Hastanın kimliği doğrulandı	
İşlem hakkında hasta ve yakını bilgilendirildi	
Kan kültürü şişeleri kontrol edildi	
Şişelerin üzeri yazıldı	
Hasta barkodları yapıştırıldı	
Şişelerin üzerine alınması hedeflenen kan miktarı işaretlendi	
Tepsideki malzemeler kontrol edildi (Enjektör / "vacutainer" / kan alma seti, eldiven, kan kültürü şişeleri, antiseptikler, gazlı bez)	
El hijyeni sağlandı, eldiven giyildi	
Turnike bağlandı, kan alınacak damar belirlendi, turnike gevşetildi	
Kan alınacak bölgeye antisepsi uygulandı	
Kan kültürü şişelerinin kapakları çıkarılarak tıpa lastiği dezenfekte edildi	
Tekrar el hijyeni sağlandı	
Turnike sıkıldı	
Steril eldiven giyildi	
Hastanın yaşına uygun hacimde kan alındı	
Turnike gevşetildi	
Enjektör/kan alma seti damardan çıkarıldı, emniyet mekanizması etkinleştirildi	
Kanama kontrol altına alındı	
Kan alma seti, kesici delici alet kutusuna atıldı	
Kan şişelere uygun hacimde dağıtıldı	
Şişeler birkaç kere nazikçe altüst edildi	
Deri antisepsisinde iyotlu antiseptik kullanıldıysa; %70 alkolle silinerek antiseptik uzaklaştırıldı	
Şişeler en geç iki saat içinde laboratuvara iletildi.	

Kaynaklar

1. Bard JD, TeKippe EM. Diagnosis of bloodstream infections in children. *J Clin Microbiol* 2016;54:1418-24.
2. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, et al. A guide to the utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the infectious diseases society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis* 2013;1-100
3. Baron EJ, Weinstein MP, Dunne WM, Yagupsky Jr P, Welch DF, Wilson DM. Coordinating ed. Baron EJ. Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology (Cumitech), Blood Cultures IV, 1C. Washington, DC. ASM Press. 2005.
4. Buehler SS, Madison B, Snyder SR, et al. Effectiveness of practices to increase timeliness of providing targeted therapy for inpatients with bloodstream infections: A laboratory medicine best practices systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Rev* 2016;29(1):59-103.
5. Ceia F, Santos-Silva A, Alves J, et al. Mycobacterial blood cultures in the diagnosis of tuberculosis in human immunodeficiency virus-infected patients: are they useful? *Clin Microbiol Infect* 2019;25(2): 264-265. doi: 10.1016/j.cmi.2018.09.013. Epub 2018 Sep 26. PMID: 30267928.)
6. Clark RB, et al. Verification and validation of procedures in the clinical microbiology laboratory. Cumitech 31A, ASM Press, 2009
7. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Principles and procedures for blood cultures; approved guideline. CLSI documents M47-A ISBN (1-56238641-7) Clinical Laboratory Standards Institute, West Valley Road, Suit 2500, Wayne Pennsylvania, 19087 USA, 2007.
8. Cockerill FR 3rd, Wilson JW, Velter EA, et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis* 2004; 38(12):1724-30.
9. Doern GV, Carroll KC, Diekema DJ, Garey KW, Rupp ME, Weinstein MP, Sexton DJ. Practical guidance for clinical microbiology laboratories: a comprehensive update on the problem of blood culture contamination and a discussion of methods for addressing the problem. *Clin Microbiol Rev* 2019 Oct 30;33(1):e00009-19. doi: 10.1128/CMR.00009-19.
10. Dubourg G, Raoult D. Emerging methodologies for pathogen identification in positive blood culture testing. *Expert Rev Mol Diagn* 2016;16(1):97-111.
11. ENA- Clinical Practice Guideline: Prevention of blood culture contamination. Erişim t: 2 Nisan 2022 https://www.ena.org/shop/catalog/resources/clinical-practice/prevention-of-blood-culture-contamination/c-23/c-106/p-387
12. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 788-802.
13. Halm M, Hickson T, Stein D, Tanner M, Vande Graaf S. Blood cultures & central catheters: Is the "easiest way" best practice? *Am J Crit Care* 2011; 20: 335-8.
14. Hanscheid T, Monteiro C, Cristino JM, Lito LM, Salgado MJ. Growth of *Mycobacterium tuberculosis* in conventional BacT/ALERT FA blood culture bottles allows reliable diagnosis of mycobacteremia. *J Clin Microbiol* 2005, 43 (2) 890-891. DOI: 10.1128/JCM.43.2.890-891.2005.
15. IDSA Guidline. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. 2018.
16. Isenberg HD, Garcia LS (eds.). 3.4. Blood Cultures. *In:* Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C. 2010
17. Lamy B, Dargére S, Arendrup MC, et al. How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of- the-art. *Frontiers in Microbiol* 2016;7:697.
18. Lee A, Mirrett S, Reller B, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: How many blood cultures are needed? *J Clin Microbiol* 2007;45:3546-8.
19. Liesenfeld O, Lehman L, Hunfeld KP, Kost G. Molecular diagnosis of sepsis: New aspects and recent developments. *Eur J Microbiol Immunol* (Bp). 2014;4(1):1-25.
20. Mandell, Douglas, and Bennett's. Principles and Practice of Infectious Diseases. 9th ed. Philadelphia, 2020. ISBN: 978-0-323-48255-4.
21. Mwaigwisya S, Assiri RA, O'Grady J. Emerging commercial molecular tests for the diagnosis of bloodstream infection. *Expert Rev Mol Diagn* 2015;15(5):681-92.

22. NHS- Clinical Guideline for Blood Culture Collection. Erişim t: 2 Nisan 2022 https://www.uhs.nhs.uk/Media/SUHTExtranet/DepartmentOfInfection/Blood-Culture-Sampling-Policy.pdf

23. Opota O, Croxatto A, Prod'hom G, Greub G. Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art. *Clin Microbiol Infect* 2015;21(4):313-22.

24. Richter SS, Beekmann SE, Croco JL, et al. Minimizing the workup of blood culture contaminants: implementation and evaluation of a laboratory-based algorithm. *J Clin Microbiol* 2002;40:2437-44.

25. Riedel S, Carroll KC. Blood cultures: Key elements for best practices and future directions. *J Infect Chemother* 2010;16:301-16.

26. SB, Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Sağlıkta Kalite, Akreditasyon ve Çalışan Hakları Dairesi Başkanlığı, Sağlıkta Kalite Standartları, Gösterge Yönetimi Rehberi, Sürüm 2.0, Revizyon 00, Temmuz 2020 https://shgmkalitedb.saglik.gov.tr/Eklenti/40208/0/sks-gosterge-yonetimi-rehberi-04032021-1pdf.pdf

27. SB, Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Sağlıkta Kalite, Akreditasyon ve Çalışan Hakları Dairesi Başkanlığı, Sağlıkta Kalite Standartları, Hastane, Sürüm 6.0, Haziran 2020

28. SB, Sağlıkta Kalite Standartları (SKS), Hastane, Sürüm 6.0, Ek 3, Hastane Sağlıkta Kalite Göstergeleri, Haziran 2020 https://kalite.saglik.gov.tr/Eklenti/37620/0/ek-3-hastane-saglikta-kalite-gostergeleri-listesi-60pdf.pdf

29. UK Standards for Microbiology Investigations. SMI B37: Investigations of blood cultures (for organisms other than *Mycobacterium* species). Bacteriology B37. Issue no: 8.2 (September 2019), p.1-55. Erişim t: 2 Nisan 2022. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/979833/B_37i8.2.pdf

30. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Cilt I. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934, Aydoğdu Ofset, Ankara, 2014. 2010. Erişim t: 2 Nisan 2022. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_1.pdf

31. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Cilt II. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934, Aydoğdu Ofset, Ankara, 2014. 2010. Erişim t: 2 Nisan 2022. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_2.pdf

32. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Cilt III. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934, Aydoğdu Ofset, Ankara, 2014. 2010. Erişim t: 2 Nisan 2022. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_3.pdf

33. Weinstein MP, Doern GV. A critical appraisal of the role of the clinical microbiology laboratory in the diagnosis of bloodstream infections. *J Clin Microbiol* 2011;49(9Suppl):S 26-S29.

34. WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy. World Health Organization 2010. Erişim t: 2 Nisan 2022. https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0005/268790/WHO-guidelines-on-drawing-blood-best-practices-in-phlebotomy-Eng.pdf

www.klimud.org

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLIMUD)
Meşrutiyet Cad. Kültür Apt. No: 38/15 Kat: 7 Kızılay-Ankara/Türkiye
Tel: +90 312 230 78 18 • +90 530 693 86 67
info@klimud.org • klimud@gmail.com