

Kan Kùltürü

UYGULAMA KILAVUZU

Editör

Prof. Dr. Ahmet BAŞUSTAĞLU

Ankara / 2013



derneklerinin katkılarıyla...



Bu yayın BD, Diagnostic Systems'in bilime koşulsuz desteği ile hazırlanmıştır.

KAN KÜLTÜRÜ UYGULAMA KILAVUZU

Editör

Prof. Dr. Ahmet Başustaoğlu



derneklerinin katkılarıyla...

YAZARLAR

Ahmet Başustaoğlu

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD.
Ankara

Aydan Özkütük

Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.
İzmir

Ayşe Esra Karakoç

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı,
Ankara

Dilek Arman

Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Kln. Mik. A.D.,
Ankara

Gül Ruhsar Yılmaz

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Kln. Mik. Kliniği,
Ankara

İlker İnanç Balkan

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Kln. Mik. AD.
İstanbul

Melda Sınırtaş

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Bursa

Mustafa Güney

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD.
Ankara

Nezahat Gürler

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.
İstanbul

Rahmet Güner

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Kln. Mik. Kliniği,
Ankara

Şebnem Erdinç

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Enfeksiyon Hastalıkları ve Kln. Mik. Kliniği,
Ankara

Yavuz Uyar

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
İstanbul

Zeynep Gülay

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.
İzmir

Dilek Yağcı Çağlayık

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji
Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı,
Ankara

DANIŞMA KURULU

Ahmet Başustaoğlu

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD.
Ankara

Ayşe Esra Karakoç

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı,
Ankara

Dilek Arman

Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Kl. Mik. A.D.,
Ankara

Emel Eryüksel

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göğüs Hastalıkları ve Yoğun Bakım ABD
İstanbul

Güner Söyletir

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD.
İstanbul

İlker İnanç Balkan

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Kl. Mik. A.D.,
Ankara

Melda Sınırtaş

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Bursa

Muhammed Güzel Kurtoğlu

Kamu Merkez Başkanlığı,
Diyarbakır

Murat Dizbay

Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Kl. Mik. A.D.
Ankara

Nezahat Gürler

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.
İstanbul

Rahmet Güner

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Kl. Mik. Kliniği,
Ankara

Sercan Ulusoy

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Kl. Mik. A.D.
İzmir

Serhat Ünal

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları A.D.
Ankara

Şebnem Erdinç

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Enfeksiyon Hastalıkları ve Kl. Mik. Kliniği,
Ankara

Yavuz Uyar

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD.
İstanbul

Zeynep Gülay

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.
İzmir

ÖNSÖZ

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

Bu kılavuzu hazırlama amacımız ülkemizdeki, sepsis tanısında altın standart olmaya devam eden, "*Kan Kültürü*" konusunda standart bir uygulama sağlayarak kaliteyi artırmak, riski azaltmak, kontaminasyon oranlarını düşürmek ve böylelikle hastanın doğru antibiyotik tedavisine hızla ulaşarak ve yalancı pozitifliğe bağlı sağlık giderlerini azaltmaktır. Bu öneriler; kan kültürünün doğru endikasyon ile, doğru zamanda, doğru teknikle alınmasını sağlayacaktır. Bu önerilerin sağlık kuruluşunuza uyarlanması sisteminizin ve klinik uygulamalarınızın kalitesini ve başarısını artıracaktır.

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

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

Ahmet Başustaoğlu

Editör

(Yazarlar ve Danışma Kurulu Adına)

İÇİNDEKİLER

1	Giriş	11
2	Tanımlar	13
3	Kan kültürünün klinik önemi	15
3.1	Kan kültürlerinin tanıdaki önemi,	15
3.2	Kan kültürlerinin alınma endikasyonları	15
3.3	Kan kültürlerinin alınmasında genel prensipler	15
3.4	Klinik laboratuvar iletişimi	16
4	Klinikte örnek alımı, kandan patojen saptanmasında kritik faktörler	17
4.1	Kandan patojen saptanmasında kritik faktörler	17
4.1.1	Zamanlama,	17
4.1.2	Hacim (kan / besiyeri oranı) (yetişkin-pediyatrik),	18
4.1.3	Kan / besiyeri oranı	19
4.1.4	Standart kan kültür setlerinin oluşturulması,	19
4.1.5.	Olası nadir enfeksiyon etkenine göre şişe seçimi, set oluşturulması,	19
4.1.6	Set sayısı ve tanısız, klinik önemi	20
4.2.	Cilt dezenfeksiyonu, kontaminasyonun önlemi	20
4.3.	Kan kültürü alımı	21
4.4.	İstem formunda olması gereken bilgiler	21
4.5.	Örnek alımı sonrası dikkate alınması gereken noktalar (Hasta başında takip edilmesi gereken kontrol listesi)	22
4.6.	Klinikte göz önünde bulundurulması gereken laboratuvar red kriterleri	22
5	Laboratuvara güvenli ve uygun sürede transport	23
6	Laboratuvara kabulde dikkat edilmesi gereken noktalar ve ret kriterleri	23
6.1	Kan kültürlerini ret kriterleri	23
7	Kan Kültürlerinin İnkübasyonu ve İncelenmesi	24
7.1	Genel kurallar	24
7.2	Otomatize kan kültür sistemleri ile inkübasyon	24
7.3	Otomatize olmayan sistemlerde inkübasyon süresi ve pozitif kan kültürlerinin saptanması	25
7.4	Pozitif kan kültürlerinden yapılan preparatların incelenmesi	25
7.5	Pozitif kan kültürlerinin ilk pasajları	25

7.6	Kan kültür besiyerinden doğrudan tanımlama ve duyarlılık testi uygulanması	26
7.7	Kan kültüründe kontaminasyon	27
7.8	Polimikrobiyal bakteriyemiler	28
7.9	Kan kültür izolatlarının saklanması	28
8	Sonuçların değerlendirilmesi ve raporlama	29
8.1	Sonuçların değerlendirilmesi	29
8.2	Kontaminasyon olarak yorumlama kriterleri	30
8.3	Polimikrobik bakteriyemi	32
8.4	Sonuçların rapor edilmesi	32
8.5	Raporlama aşamaları	33
8.6	Kritik değer raporu (sözel ve yazılı)	34
9	Kolonize vasküler kateter kaynaklı enfeksiyonları laboratuvar tanısı	35
9.1	Mikrobiyolojik tanı	36
9.2	Santral venöz kateterler ve portlar ile ilgili öneriler	37
9.3	Kısa süreli periferik kateterler ile ilgili öneriler	38
10	Standart besiyerlerinde üremesinde güçlük çekilen mikroorganizmaların saptanmasında konvansiyonel yöntemler	38
10.1	<i>Abiotrophia</i> türleri, besin yönünden eksik streptokoklar ve <i>Granulicatella</i> türleri	39
10.2	<i>Bartonella</i>	40
10.3	<i>Brucella</i>	40
10.4	<i>Campylobacter</i>	40
10.5	<i>Francisella tularensis</i>	40
10.6	HACEK grubu	41
10.7	<i>Helicobacter</i>	41
10.8	<i>Legionella</i>	41
10.9	<i>Leptospira</i>	41
10.10	Mantarlar	41
10.11	<i>Mycobacterium</i>	42
10.12	<i>Mycoplasma</i>	42
11.	Örneğin laboratuvarında işleme alınması sırasında dikkat edilmesi gereken biyogüvenlik uygulamaları	43
11.1	Kan kültür örneğinin alınması sırasında uygulanacak biyogüvenlik kuralları	43
11.2	Kan kültür örneklerinin taşınması sırasında uygulanacak biyogüvenlik kuralları	43

11.3	Kan kültür örneklerinin laboratuvara kabulü sırasında uygulanacak biyogüvenlik kuralları	.44
11.4	Kişisel koruyucu ekipman kullanımı	.44
11.5	El yıkama	.44
11.6	Güvenlik ekipmanları	.44
11.7	Laboratuvar ekipmanlarının kullanımı	.45
11.8	Standart önlemler	.45
11.9	Biyogüvenlik eğitimi	.45
11.10	Laboratuvar kazalarının yönetimi	.46
12.	Kalite güvence	.46
12.1	Çalışma öncesi işlemler	.46
12.1.1	Hasta değerlendirmesi	.46
12.1.2	Kan kültürü istemi	.47
12.1.3	Örnek alımı	.48
12.1.4	Örnek taşınması	.49
12.1.5	Örneklerin kayıt altına alınması ve İşlenmesi	.49
12.2	Çalışma aşamasındaki işlemler	.49
12.3	Çalışma sonrası işlemler	.50
12.3.1	Sonuçların raporlanması	.50
12.3.2	Sonuçların saklanması	.50
12.3.3	Konsültasyon	.51
	Kaynaklar	.53

1. GİRİŞ

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

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

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

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

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

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

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

Tablo-1 Kan kültüründen sıklıkla izole edilen mikroorganizmalar

Gram Pozitifler	Gram Negatifler
<ul style="list-style-type: none">• Koagülaz negatif stafilokoklar• <i>Staphylococcus aureus</i>• Viridans streptokoklar• <i>Streptococcus pneumoniae</i>• <i>Streptococcus pyogenes</i>• <i>Enterococcus faecalis</i>• <i>Clostridium perfringens</i>• Anaerobik streptokoklar	<ul style="list-style-type: none">• <i>Salmonella typhi</i>• Diğer <i>Salmonella</i> serovaryları• <i>Brucella</i> spp.• <i>Haemophilus influenzae</i>• <i>Pseudomonas aeruginosa</i>• <i>Klebsiella</i> spp.• <i>Escherichia coli</i>• <i>Proteus</i> spp.• <i>Bacteroides fragilis</i>• <i>Neisseria meningitidis</i>
Mayalar <ul style="list-style-type: none">• <i>Candida albicans</i>• Diğer <i>Candida</i> spp.• <i>Cryptococcus neoformans</i>	

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

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

2. TANIMLAR

Tanım	Açıklama
Antiseptik	Mikroorganizmaların üremesini ve gelişmesini engelleyen madde
Bakteriyemi	Kan dolaşımında bir bakterinin bulunması hali
Belirsiz izolat	Güvenilir bir şekilde kontaminant veya gerçek pozitif olarak kategorize edilemeyen izolat
Bifazik kan kültürü sistemi	Aynı şişede sıvı ve katı besiyerini birlikte içeren kan kültürü sistemi
Ciddi sepsis	Hipotansiyon, hipoperfüzyon veya organ yetersizliği ile ilişkili sepsis
Dezenfektan	Patojen mikroorganizmaların öldürülmesi veya üremelerinin durdurulması amacıyla kullanılan kimyasal maddeler
Dolaşım sistemi enfeksiyonu	Bakteriyemi veya fungemi ile ilişkili enfeksiyon
Fazla dolmuş (kan hacmi)	Şişe üzerinde önerilen kan hacminin % 20'sinden daha fazla kan içeren kan kültürü şişesi
Fungemi	Kan dolaşımında bir mantarın (maya veya küf) bulunması hali
Gerçek pozitif	Bir hastalık / durum mevcut olduğunda o hastalığa yönelik testin pozitif olma hali (kan kültürü için; izole edilen mikroorganizmanın mevcut sepsisin gerçek sebebi olarak değerlendirilmesi)
Kan kültürü serileri	Belli bir dönem içerisinde bir hastanın bakteriyemi veya fungemisi olup olmadığına karar vermek için alınan kan kültürlerinin tamamı
Kan kültürü seti	Her bir damar girişiminden alınan kan kültürü şişeleri veya tüplerinin tamamı
Kan kültürü	Hastadan alınan kanın mikroorganizmaların üretilmesi amacıyla yapılan kültürü
Klorheksidin glukonat	Cildin temizlenmesi ve dezenfeksiyonu için kullanılan madde (klorheksidinin diğlukonat tuzu)
Kontaminant	Kan örneğinin alındığı hasta için patojen olmayan, örneğin alınması veya işlenmesi sırasında kan kültürüne bulaşan, örneğin alınması sırasında hastanın kanında mevcut olmayan mikroorganizma
Kültür	Bakteri ve/veya mantar gibi mikroorganizmaların bilimsel bir araştırma veya klinik tanı amacıyla kontrollü bir ortamda üretilmesi
Kültür besiyeri	Mikroorganizmaların üretilmesi/ kültürü için kullanılan / hazırlanan madde veya formülasyon
Manuel kan kültürü sistemi	Otomatize veya mekanik herhangi bir sistem kullanmadan şişelerin işlendiği kan kültürü sistemi
Mikobakteriyemi	Kanda mikobakterilerin bulunması
Otomatize kan kültürü sistemi	Kan kültürü şişelerinin inkübasyonunu, çalkalanmasını ve üreme takibini otomatize olarak yapan sistem
Önemsiz izolat	Klinik önemi tanımlanamamış mikroorganizma

Pasaj	Ön kültür ortamından (örneğin kan kültürü şişesinden) alınan örneğin mikroorganizmaları çoğaltma / tanımlama amacıyla taze kültür ortamlarına yapılan aktarma işlemi
Povidon iyodin	Cilt dezenfeksiyonunda topikal olarak kullanılan ve suda eriyebilen polivinilpirolidon- iodin kompleksi
Pozitif şişe	(1) Mikrobiyal üreme belirtisi veren şişe(görsel veya otomatize sinyal), (2) Mikroorganizma izole edilen kültür
Sepsis sendromu	Sepsise herhangi bir organın anormal perfüzyonunun eşlik etmesi
Sepsis	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu(SIRS)'na eşlik eden enfeksiyon. Kanda mikroorganizmalar ve/veya toksinlerinin bulunmasına bağlı olarak gelişen sistemik hastalık.
Septik episod	Mikroorganizma varlığına bağlı olarak vücutta meydana gelen sepsis, sepsis sendromu veya septik şok dönemi
Septik şok	Uygun sıvı desteğine rağmen arteriyel hipotansiyonun eşlik ettiği sepsis tablosu
Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS)	Sepsiste olduğu gibi enfeksiyöz olaylara karşı veya yanık, pankreatit gibi enfeksiyon dışı durumlarda vücudun oluşturduğu immün yanıtlar dizisidir. Doğal immün yanıtın sistemik aktivasyonu ile tetiklenen bir fizyolojik durumdur (hastada aşağıdaki durumların birden fazlasının mevcut olması; Ateş > 38 °C veya <36 °C, nabız >90/dakika, solunum hızı >20/dakika, veya PaCO ₂ < 32 mmHg, lokosit sayısı >12.000 veya <4000)
Süregen bakteriyemi	Bir hasta antimikrobiyal tedavi alırken devam eden bakteriyemi (Not-1:Bu tip bakteriyemi uygun olmayan veya yetersiz tedavi sonucu olabilir, Not-2: uygun şekilde drene edilmeyen enfeksiyon odağına bağlı olabilir)
Terminal pasaj	Rutin inkübasyon süresi sonunda üreme negatif olan kan kültürü şişesinden yapılan pasaj.
İodin solüsyonu	Cilt dezenfeksiyonunda kullanılan iyod ve potasyum iyodür'ün alkol bazlı solüsyonu
Yalancı pozitif	Üreme bulgusu gösteren bir şişenin steril olarak değerlendirilmesi. Yalancı pozitif bir izolat kontaminant olarak değerlendirilir.
Yeterli kan hacmi	Şişe üzerinde önerilen hacimde kan içeren kan kültürü şişesi
Yetersiz kan hacmi	Şişe üzerinde önerilen kan hacminin % 80'inden daha az kan içeren kan kültürü şişesi

3. KAN KÜLTÜRÜNÜN KLİNİK ÖNEMİ

3.1 Kan kültürlerinin tanıdaki önemi

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

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

3.2 Kan kültürlerinin alınma endikasyonları

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

3.3 Kan kültürlerinin alınmasında genel prensipler

1. Kan kültürü alınması rutin bir tetkik olarak görülmemelidir, sadece klinik gereklilikler doğrultusunda kan kültürü alınmalıdır.
2. Santral venöz kateter, diyaliz kateteri gibi herhangi bir plastik enfeksiyöz odak oluşturabilecek aletten kan kültürü alınması, kateter ilişkili enfeksiyon şüphesi durumunda uygulanmalıdır.
3. Bakteriyemi veya fungemi şüphesi varlığında erişkinlerde ayrı venlerden iki set kan kültürü alınmalıdır (çocuklarda 1 veya 2 set alınmalıdır) (Bakınız Bölüm 4).
4. Kan kültürleri olası sepsis veya bakteriyemi durumunda antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır. Eğer hasta antibiyotik tedavisi alıyorsa, pediatrik hastalar dışında antibiyotik dozundan hemen önce alınmalıdır.
5. Otomatize sistemlerde kullanılan besiyerleri klinik kullanımda olan antibiyotiklerin çoğunun nötralizasyonu için gerekli ikili reçine kombinasyonları içermektedir. Bu sebepten hasta antibiyotik tedavisini almış olsada, kültür alma endikasyonları mevcut ise kan kültürü alınmalıdır.

Müt ekip kan kültürlerinin iki durumda endikasyonu vardır;

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

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

3.4 Klinik laboratuvar iletişimi

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

Klinik;

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

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

Laboratuvar;

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

1. Hastanenin ve laboratuvarı uygulama kılavuzları doğrultusunda şişelerin uygun olup olmadığını kontrol ettikten sonra teslim almalıdır.
 - a. İstem uygun yapıp yapılmadığı kontrol edilmelidir.
 - b. Şişelerin ve istem formunun üzerinde yukarıda belirtilen bilgilerin olup olmadığı kontrol edilmelidir. İstem formu ile şişe üzerindeki bilgiler birbirini tutmalıdır. Problemleri bir durum söz konusu ise klinikle temasa geçilmelidir.

- c. Aksi durumda laboratuvar sorumlusunu da bilgilendirerek kriterler doğrultusunda ret etmelidir. Ret işleminden ilgili kliniği mutlaka bilgilendirmelidir. İsimli şişeler mutlaka ret edilir.
- d. Şişelerin üzeri kan kontaminasyonu ve kirlenme açısından kontrol edilmelidir. Kan ve kan ürünleri ile bulaşan etkenlere karşı tedbirli olunmalıdır. Bu nedenle şişeler mutlaka eldiven ile tutulmalıdır. Böyle bir durum söz konusu ise şişelerin üzeri %10'luk çamaşır suyu solüsyonu ile silinmelidir.
2. Örneğin koşullara uygun olup olmadığını değerlendirmelidir (hacim olarak eksik olan kan kültürlerini kliniğe bildirmeli ve/veya örneğin tekrar alınmasını sağlamalıdır).
3. Eğer örneğin alınmasının üzerinden 2 saatten fazla geçmiş ise şişe içeriği üreme açısından görsel (baloncuk, sediment oluşumu veya eritrositlerin lize olması, renk indikatörünün değişimi gibi) olarak değerlendirilmelidir.
4. Tek şişelik set gönderilmesi durumunda raporda belirtilmek üzere not alınmalı ve işleme alınmalıdır.
5. Kan kültüründe üremenin olduğu zaman sonucu hızla klinikle paylaşmalı ve rapor edilen kişinin adı, telefon numarası ve raporlama saati not edilmelidir.
6. Laboratuvarda kültür sonucunu klinikle paylaşan kişi, söylediklerini karşı tarafa tekrar ettirerek yanlışlık olup olmadığını kontrol etmelidir.

4. KLİNİKTE ÖRNEK ALIMI, KANDAN PATOJEN SAPTANMASINDA KRİTİK FAKTÖRLER

Kan kültürü için çoğu zaman kültür seti ifadesi kullanılır ve aseptik koşullarda tercihan venöz girişimle alınan kan örneğinin bir veya fazla sayıda ve çoğu zaman sıvı besiyeri içeren şişe veya şişelere ekilmesini tanımlar.

Tek bir damar veya kateterden girişimle alınan bir ya da fazla sayıdaki şişeden biri veya fazlasında üreme saptandığında pozitif kabul edilir. Aynı girişimle alınan örnekler birden fazla şişeye de ekilse ayrı kültürler olarak değerlendirilmez.

4.1. Kandan patojen saptanmasında kritik faktörler

Hastaneye yatması gereken, yüksek ateş ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) veya hipotermi ($\leq 36^{\circ}\text{C}$) ve/veya lökositoz ($>10.000/\text{mm}^3$) özellikle de immatür ve bant formlara doğru sola kayma veya mutlak granülosit sayısı $<1000 / \text{mm}^3$ saptanan hastadan kan kültürü alınmalıdır. İdeal olan kan kültürünün antibiyotik tedavisine başlanmadan önce alınmasıdır.

Yenidoğanda ateş ya da hipotermiye eşlik eden iştahsızlık ve emme bozukluğu sepsisin tek klinik belirtisi olabilir. Bu olgularda idrar veya BOS kültürünün yanı sıra kan kültürü de alınmalıdır. Yaşlılarda ise bakteriyemiye rağmen afebril tabloda iyi tanımlanamayan myalji, halsizlik, güçsüzlük söz konusu olabilir. Yaşlıdaki hafif ateş özellikle de halsizlik, myalji veya inme ile birlikte ise infektif endokarditin göstergesi olabilir.

4.1.1 Zamanlama,

Kan kültürünün zamanlaması ve doğru sonuç eldesi için kültürler arasında olması gereken optimum süre konusunun araştırıldığı çalışmalar sınırlıdır. Deneysel çalışmalar, bakterinin kana girmesinden sonra titremelerin ortaya çıkışına kadar yaklaşık 1 saat geçtiğini, ardından da vücut ısısının yükseldiğini göstermektedir. Pratikte, kültür için kan örneği çoğunlukla ateş ortaya çıkınca alınmaktadır, ancak kanda bulunan mekanizmalar nedeni ile bu süre zarfında bakteri kandan temizlenebilir. Bu nedenle ateş veya titreme ortaya çıkar çıkmaz, en kısa sürede örnek alınmalıdır.

Örnekler arasında geçecek süreye hastanın durumuna göre karar verilmelidir. Hızla antibiyotik tedavisi başlanması gereken acil hastalarda, kültür için kan örnekleri eş zamanlı veya kısa zaman içinde (örn, < 1 saat) alınmalıdır. Daha az aciliyet gösteren durumlarda örnekleme zamanları arasında 1-2 saat olması düşünülebilir. Bu özellikle endovasküler enfeksiyonlarda persistan bakteriyeminin dökümantasyonu için yardımcı olabilir.

Tablo:2 Kan kültürü zamanlaması için öneriler	
Klinik Durum	Önerilen örnekleme
Akut primer bakteriyemi/ fungemi, menenjit, osteomyelit, artrit, pnömoni	Ayrı bölgelerde 2-3 set kan kültürü Biri diğerinin hemen ardından
Bilinmeyen kaynaktan ateş	Ayrı bölgelerde 2-3 set kan kültürü Biri diğerinin hemen ardından 24-48 saat sonra üreme yoksa 2 set kan kültürü ayrı bölgelerden ve ardı ardına
Bakteriyemi /fungemi şüphesine rağmen negatif kan kültürü sonuçları	Mikobakteri, mantar gibi mikroorganizmaları, nadir ya da zor üreyen etkenlerin izolasyonunu sağlayabilecek alternatif kan kültürü yöntemlerini değerlendirilmelidir.

Kan örnekleri laboratuvara mümkün olduğunca çabuk; en geç 2 saat içinde ulaştırılmalıdır. Kan kültürleri için bir çok yerde kullanılan otomatik cihazlar üremeyi her aşamada tesbit edebilseler bile, dış ortamda 2 saatten fazla bekletilmiş kan kültürlerinde pozitif sonuç saptanmasında geçikme olmaktadır.

Kültür şişeleri örnek alınmadan önce ve sonra buzdolabına veya soğuk bir ortama konulmamalıdır.

4.1.2. Hacim (kan / besiyeri oranı) (yetişkin-pediyatrik)

Dolaşım enfeksiyonu olan hastalardan etkenin izole edilmesi için tek başına en önemli faktör her bir kan kültürü için (kültür seti) alınan örneğin miktarıdır. Kan kültürü yapılacak hastanın yaşı ve kilosu önemlidir.

Erişkin Hastalar

Çok sayıda çalışma alışla gelmiş manüel kan kültürünün tanısal değeri ile örneklenen kan miktarı arasında direk ilişki olduğunu göstermektedir. Kan miktarı 2 ml'den 20 ml'ye çıkartıldığında kültür pozitifliği %30-50 oranında artmaktadır. Farklı çalışmalarda erken-jenerasyon yarı-otomatik kan kültür sistemi ile ve BACTEC 9240 (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, Md.) ile de benzer sonuçlar elde edilmiştir. BACTEC 9240 ile gerçekleştirilen çalışmada 30 dk'lık zaman diliminde alınan 20 ml örnek, 10'ar ml sıvı içeren aerop ve anaerob şişelere eşit olarak dağıtılmış ve tek kültür olarak kabul edilmiştir. Buna göre örnek büyüklüğü 10 ml'den başlayarak 40 ml'ye kadar arttırıldığında sağlanan sonuçlar değerlendirilmiş ve 20 ml örneğin 10 ml'ye göre %30; 30 ml'nin ise yine 10 ml'ye göre %47 oranında kültür pozitifliği artışı sağladığı belirlenmiştir. Örnek 40 ml'ye arttırıldığında 30 ml'ye göre sadece %7'lik pozitiflik artışı sağlanmıştır. Bu sonuçlara göre erişkinde her kültür için 20-30 ml örnek alınması önerilir.

Pediyatrik Hastalar

Bebek ve çocuklarda optimum kan örneği miktarı kesin olarak tanımlanmamışsa da miktar arttıkça dolaşım enfeksiyonu tanısındaki benzer artış bu hasta popülasyonu için de söz konusudur. Eski bir çalışmada >1 ml örnek ile bakteriyemiyi saptama olasılığının <1 ml örneğe göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yakın tarihli çalışmalarda, 2 aya kadar bebeklerde

%68'e varan oranda, doğumdan 15 yaşa kadar ise %60 oranında düşük düzeyde bir bakteriyemi (<10 CFU/ml) olabildiği gösterilmiştir. % 23 olguda 1 CFU/ml saptanmıştır. Artış oranı araştırılmamışsa da bu çalışmaların sonunda örnek miktarının 5 ml'ye çıkarılması ile kan dolaşım enfeksiyonunu saptama olasılığının artırılacağı sonucuna varılmıştır. Total kan hacminin % 4-4.5'u kadar örnekleme yapmanın güvenli olduğu bilinse de bir kan kültürü için örneklemenin %1'i aşmaması önerilir.

Çocuklarda optimal kan miktarı 1-5 ml olarak kabul edilir. Çocuğun ağırlığına göre kan kültürleri için gerekli optimal kan miktarı konusunda fikir birliği olmasa da belirlenmiştir (Tablo 1). Pratik bir yaklaşımla 1-6 yaşındaki çocuklarda (bazı araştırmacılara göre 10 yaşına kadar olan çocuklarda) her yaş için 1 ml kan alınması düşünülebilir. Örneğin 3 yaşındaki bir çocuk için iki farklı bölgeden toplam 3 ml kan alınır; her bir şişeye 1,5 ml konulur.

Tablo 3 Bebek ve çocuklarda kültür için önerilen kan miktarı					
Hastanın Ağırlığı kg	Toplam Kan Hacmi (ml)	Kültür İçin Önerilen Kan Hacmi (ml)		Kültür İçin Toplam Hacim (ml)	Toplam Kan Hacminin %'si
		Kültür no. 1	Kültür no. 2		
≤1	50-99	2		2	4
1.1-2	100-200	2	2	4	4
2.1-12.7	>200	4	2	6	3
12.8-36.3	>800	10	10	20	2.5
>36.3	>2,200	20-30	20-30	40-60	1.8-2.7

4.1.3. Kan / besiyeri oranı

Normal insan kanı mikroorganizmaların üremesini inhibe eden maddeler içerir. Bu nedenle kan kültürü yapılacağında alınan hasta kanının belirli bir oranda dilue olması gerekir. Bu oran 1:5 veya 1:10 olmalıdır. Bu dilüsyon oranları kanda bulunan mikroorganizmaların üremesini inaktive eden inhibitörlerin (kompleman, lizozomlar, fagositik hücreler, antikolar ve antibiyotiklerin) etkisini azaltır veya minimal düzeye indirir. Yarı otomatik sistemlerde kullanılan şişelerde bu oranlar daha düşük 1:10,1:5 arasında olabilir. Çocuk hastalar için kullanılan pediatrik kan kültürü şişelerinde besiyeri miktarı azaltılmıştır.

4.1.4. Standart kan kültür setlerinin oluşturulması,

Her sette 2 şişe bulunur. Erişkin hastalardan kan kültürü yaparken bir aerop, bir de anaerop şişe kullanılarak her şişeye en az 10 ml kan alınması gerekir (toplamda 20-30 ml). Anaerop kan kültürü şişesine alınan kan sadece anaerop bakterilerin izolasyonu için değil *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* gibi bazı fakültatif bakterilerin ilk izolasyonda anaerop besiyerlerinde daha iyi ve çabuk üremeleri nedeniyle tercih edilmektedir. Yeterli kanın alınmadığı durumda öncelikle aerop şişeye gerekli miktar konularak kalan anaerop şişeye konmalıdır. Çünkü *Pseudomonas* spp. gibi mutlak aerop bakterilerin yanı sıra mantar izolatları da çoğunlukla aerop şişelerden elde edilmektedir. Anaerop şişe kullanılmayacaksa da, yeterli miktarda örnekleme yapmak ve uygun kan:besiyeri oranı sağlayabilmek için 2 şişe kullanılmalıdır. Çocuk hastalarda anaerop şişe kullanmak gerekmemektedir.

4.1.5. Olası nadir enfeksiyon etkenine göre şişe seçimi, set oluşturulması,

Özellikle endokarditli hastalardan kültür yapılacağında iki kültür arasındaki optimal süre hakkında kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Bu hastalarda önerilen 24 saatte 2-3 kan kültürü seti alınmasıdır. Bazı özel durumlarda yeni doğanlarda erken membran rüptüre olduğunda

anaerop kültür yapılması gerekir. Fungemi düşünüldüğünde, rutin kullanılan aerop şişelerin yanı sıra mantarların daha kolay izolasyonunu sağlayan özel besiyerleri tercih edilir. Geçmişte özel yöntemler gerektiği bilinen HACEK, nutrisyonel varyant streptokok, *Brucella* gibi mikroorganizmalar günümüzde kullanılan otomatize kan kültür sistemleri ile izole edilebilmektedir. Ancak pek çok sık rastlanan patojen 24-36 saat gibi bir sürede belirlenebilirken bu etkenler için 5 güne kadar uzayabilen inkübasyon ve inkübatör sinyal vermeden kör pasaj gibi işlem gerekeceğinden olası durumda laboratuvara bilgi verilmesi önem taşır.

4.1.6 Set sayısı ve tanısal, klinik önemi

Kan kültürleri için kullanılan şişelerin sayısının artması ile mikroorganizmaların saptanma oranları artmaktadır. Endokarditli hastalarda bir set kan kültürü yapıldığında duyarlılık %80 iken 2 veya 3 kültür yapıldığında duyarlılık % 88-99'a çıkmaktadır. Ancak 24 saatte 4'den fazla kan seti kullanılması önerilmez. Yapılan çeşitli çalışmalarda 2 kültür seti kullanıldığında duyarlılığın %99 olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle 3'den fazla kültür şişesinin kullanılması etkenin izolasyon oranını arttırmadığından, aynı zamanda kültür maliyetinin yükselmesine ve iatrojenik anemiye de neden olabileceğinden önerilmemektedir.

Tüm bakteriyemi kuşkulu hastalarda ayrı venlerden 2 set kültür yapılması gerekir. Çocuk hastalardan ağırlığına göre değişmek üzere bir set yeterlidir. Akut endokardit şüphesinde 3 ayrı bölgeden, üç set kan kültürü yapılması önerilir. Orijini bilinmeyen ateşte 2-4 set farklı bölgelerden kan alınır. 24-48 saatte negatif ise 2-3 set daha alınması uygun olur. Akut enfeksiyon kuşkusu olmayan hastalarda ise 24 saat içinde farklı bölgelerden 2-4 set kan alınması önerilir. Akut febril epizotlarda 2 farklı bölgeden 2 set kan alınması yeterlidir.

Birden fazla kan kültürü yapılması değerlendirme açısından da önemlidir. Endokardit, diğer endovasküler enfeksiyonlar gibi persistan bakteriyemi olguları ve gerçek bakteriyemi olgularından farklı olarak cilt kontaminantları genellikle tek kültürde ürer. Bu ancak birden fazla kültür alınması ile anlaşılabilir ve hem klinisyen hem de mikrobiyolog için değerlidir.

4.2. Cilt dezenfeksiyonu, kontaminasyonun önemi

Enfeksiyon etkeninin en kısa zamanda ve doğru olarak saptanması için başta antisepsi-dezenfeksiyon olmak üzere bir takım kurallara uyulması gerekmektedir. Kan birçok mikroorganizmanın kolayca üreyebileceği bir ortamdır. Bu yüzden kan alma sırasında deri antisepsisi çok önemlidir. Antisepsiye dikkat edilmediğinde deriden bulaşabilecek koagülaz negatif stafilokoklar veya *Corynebacterium* spp. gibi cilt florası bakterileri yanlış değerlendirmeye yol açabilirler.

Standart uygulama olarak önce %70 propil alkol ile temizlik, ardından %1-2'lik iyot tentürü veya bir iodoform (iyotun sudaki çözeltileri) ile silinmesi önerilir. İyodoformların maksimum antiseptik etkisi için 1,5-2 dk. temas süresi gereklidir. İyot tentürünün (alkol çözeltisi) etkisini 30 sn sonra gösterir. Bakterinin hücre duvarına etki göstermesi için ıslak halden kuruya dönmesi önemlidir. Alkol bazlı solüsyonlar daha çabuk kurur. Sağlık personeli de çoğu zaman iş yükü telaşı içinde 1,5-2 dk. bekleyemez. Bu nedenle tentür kullanımı ile kontaminasyon oranları daha düşüktür. Farklı çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre iyot tentürü ya da klorheksidin kullanımı eşdeğer olup povidon iyodin kullanımına göre kontaminasyon oranları daha düşüktür. Ek olarak klorheksidin renksizdir ve daha az cilt irritasyonuna neden olur. İyot kullanımı ile ise girişim tamamlandıktan sonra cildin alkol ile silinmesi gerekir. Ancak hem iyodoformlar ve hem de klorheksidin yenidoğan için toksik olabilir; >2 ay çocukta güvenle kullanılabilir. Bir çalışmada etkinliği gösterilmişse de yeterli veri elde edilinceye dek yenidoğanda klorheksidin kullanıldığı taktirde örnekleme işlemi tamamlandıktan sonra cilt bölgesi alkol ile silinmelidir. İlgili kılavuzda kateter yerleştirilmesi sırasında % 2 klorheksidin kullanımı ilk tercih olarak önerilmişse de <2 yaş çocukta öneride bulunulmamıştır.

İşlem basamakları şu şekildedir:

- a. Girişim yapılacak cilt bölgesi 30 saniye süre ile ileri geri sürtülerek %70 izopropil alkol ile hazırlanır. Alkol ve dezenfektanı tek süngerde sunan ticari ürünler kullanılıyorsa kuruması beklendikten sonra (d)'ye geçilir.
- b. %1-2 iyot tentürü veya %2 klorheksidin ile silinir ve en az 30 saniye kuruması için beklenir. Eğer iyodofor kullanılacaksa merkezden dışarı doğru dairesel hareketlerle, merkeze yeniden teması önlenecek şekilde silinmesi gereklidir.
- c. Cilt dezenfeksiyonundan sonra venin palpasyonu gerekirse eldivenli elin parmağı antiseptikle silinip kuruması beklendikten sonra temas edilir
- d. Vene girilir.

4.3. Kan kültürü alımı

1. Kültür için kan örneğinin venöz girişimle alınması tercih edilir, arteriyel kan kültürünün üstünlüğü gösterilememiştir ve önerilmez.
2. Kateter veya damar içi diğer yabancı cisim aracılığı ile kan kültürü alınmamalıdır, çünkü kontaminasyon riski yüksektir. Gereken durumda kateterden kan alındığında da mutlaka venöz kandan ayrıca kültür alınmalıdır. Kateter kanı örnekleme yapıldığında başlangıçta alınan kanın atılması veya kateter girişinin yıkanması gerekmez. Heparin kalıntısı bulursa dahi proteinden zengin besiyeri içinde inaktive olacaktır. Örneğin alındığı şişe üzerine kateterden alındığı mutlaka yazılmalıdır.
3. Venöz girişim yeri belirlendikten sonra kültür şişesi ya da tüpün lastik kapağı izopropil alkol ile silinerek kuruması beklenir.
4. Venöz kanın önce bir iğne ve enjektör aracılığı ile alınarak, alındığı iğne ile şişeye ekimin gerçekleştirilmesi tercih edilerek önerilir. İğne değiştirerek sağlık çalışanının yaralanma ve enfeksiyon riski artışı ile sonuçlanabilecek çift iğne uygulamasına gerek yoktur.
5. Kan, ticari ürünler arasında bulunan iki taraflı iğne ya da transfer seti ile kültür şişesine aktarılabilir. Bu şekilde direk inokülasyon yapıldığı durumda geri kaçmayı önlemek için kültür şişesi ven girişimi bölgesinin aşağısında tutulmalıdır. Bu yöntemle basıncı kontrol etmek güç olabilir ve frajil damara sahip yaşlı veya kemoterapi alan hastalarda olduğu gibi damarın kollapsına ve optimal kan örneğinin elde edilememesine neden olabilir.
6. Sodyum polianetolsulfonat (SPS) içeren kan tüplerine alınarak da laboratuvara gönderilebilirse de bu yöntem tercih edilmez çünkü fazladan işlem basamağı kontaminasyon riskini artırabilir, sağlık personeli için riski artırır, diğer amaçlarla alınan kan tüpleri ile karışıklık nedeni olabilir. Tüplerde kullanılan antikoagülanlar olan sitrat, heparin, EDTA ve oksalat bazı bakteriler için toksik olabileceğinden SPS dışındaki kan tüpleri kullanılmamalıdır.
7. İlk girişimde damara ulaşılamamış ve yeniden girişim yapmak gerekirse yeni iğne kullanılmalıdır.
8. Örnek alındıktan sonra şişenin kapağı antiseptikle silinmeli; hafifçe sallayarak ters çevirmek sureti ile kanın pıhtılaşması önlenip besiyeri ile karışması sağlanmalıdır.
9. Örnek 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılmalı, bu sırada buzdolabı ya da dondurucuya konmamalıdır.

4.4. İstem formunda olması gereken bilgiler

Laboratuvarda bakteriyemi tanısının doğru konulabilmesi için istem (istem) formlarının doğru, bilgilendirici şekilde doldurulması gerekmektedir. Tüm Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarına gönderilen örnekler gibi bilgisayar ortamında yer alan istem formunda;

- hastanın adı, soyadı,
- TC. numarası veya protokol numarası,
- yattığı servis,
- yaşı,
- örneğin alındığı saat,
- hangi bölgeden alındığı, (Bu bilgilerin kısaltılarak yazılması daha uygundur)
- muhtemel klinik tanı,
- altta yatan hastalığının olup olmadığı,
- kullandığı antibiyotik veya başka ilaçlar,
- protez, shunt, kateter ve sonda bulunup bulunmadığı,
- mümkünse kanı alan kişinin adı soyadı,
- tedavisinden sorumlu doktorun ismi,
- üreme olduğunda bilgi verilebilmesi için iletişim sağlanacak telefon numaraları laboratuvara bildirilmelidir.

Kateterli bir hastanın kan kültüründen koagülaz negatif stafilokok ve gram pozitif çomaklar izole edildiğinde anlamlı olabilecek diğer hastalar için çoğu kez bu bakterilerin hiç bir değeri olmayabilir.

4.5. Örnek alımı sonrası dikkate alınması gereken noktalar (Hasta başında takip edilmesi gereken kontrol listesi)

- a. Kan kültürü şişelerine kan konulduktan sonra şişenin kapağının antiseptik madde ile temizlendiğinden emin olunmalıdır.
- b. Hastadan kan alındığında hemen şişelerin üzerine gerekli bilgilerin yazılıp yazılmadığı kontrol edilmelidir (Bakınız Madde 4.4)
- c. Alınan kan miktarı toplam alınması gereken miktardan az ise mutlaka klinisyenin laboratuvara bilgi vermesi gerekir.
- d. Kültür için kan alındıktan sonra zaman, sıcaklık ve uygun şekilde transportun sağlanması önemlidir.
- e. Şişeler laboratuvara ulaştırılıncaya kadar oda ısısında tutulmalıdır. >35°C sıcaklıkta bekletilmemelidir.

4.6. Klinikte göz önünde bulundurulması gereken laboratuvar ret kriterleri

- a. Laboratuvarın kesinlikle ve her durumda ret edeceği koşul istem kağıdı ve şişe üzerindeki bilgilerin eksikliğidir. Bu nedenle klinisyen laboratuvara göndermeden önce mutlaka istem kağıdı ve şişe etiketi üzerinde yer alan bilgilerin tam ve birbiri ile uyumlu olduğunu kontrol etmelidir.
- b. Kültür şişelerinde kırık ve sızıntı olmadığından emin olmalıdır.
- c. Kılavuzda yazılı tüm işlem basamaklarının doğru uygulanmasının elde edeceği sonuç üzerinde etkili olacağını farkında olmalı eksiksiz uygulamalıdır.

5. TRANSPORTU

Kan kültürü şişelere alınıp laboratuvara gönderilirken bazı kurallara uyulması gerekmektedir;

1. Şişenin üzerine ve istem kağıdına açıklayıcı bilgiler yazılmalıdır (*Bakınız Madde 4.4*).
2. Kan kültürü şişelerinin iki saat içinde laboratuvara gönderilmesi gerekmektedir. Bu süreye uyulmaması; şişelerin kan kültür sistemlerine geç girilmesi; üremelerin engellenmesine ya da üremelerin geç tespit edilmesine neden olabilir. Ayrıca uygun bekletilme yöntemleri için üreticinin önerilerine uyunuz.
3. Kan kültürü alınan şişeler asla buzdolabına konulmamalı, dondurulmamalıdır. Buzdolabında bekletme ya da dondurma bazı mikroorganizmaların ölmesine neden olurken; şişelerin dondurulması, şişelerin patlamasına neden olabilir.
4. Taşıma sırasında kültür şişelerinin kırılmayacağı bir ulaşım yöntemi kullanınız. Kullanıcıların pnömatik sistemde kan kültür şişelerini gönderirken kurallara tam uymalarını sağlayınız.
5. Bölüm 11'de yer alan biyogüvenlik önlemlerini göz önünde bulundurunuz.

6. KAN KÜLTÜRLERİNİN LABORATUVARA KABULÜNDE DİKKAT EDİLMESİ GEREKEN NOKTALAR VE RET KRİTERLERİ

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

6.1. Kan kültürlerini ret kriterleri

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

- a. Üzerinde hasta adı, protokol numarası olmayan örnekler mutlaka ret edilmelidir. Yanlış ve eksik etiketli olanlar da aynı şekilde reddedilmelidir.
- b. Kan kültürü şişesi üzerinde yazılı bilgilerle, istek formunda belirtilen bilgiler aynı olmalıdır. Uygunluk göstermeyen örnekler reddedilmelidir.
- c. Ancak örneğin reddedilme bilgisi doktoruna ve/veya hemşireye verilmeli ve bu şekilde zaman kaybetmeden yeni bir örneğin alınması sağlanmalıdır.
- d. Uygun şekilde laboratuvara ulaştırılmamış, 2 saatten çok bekletilmiş ve buzdolabına konmuş örneklerin kabul edilmemesi gerekir.
- e. Üreme olduğu düşünülürse kan kültürü cihazına koymaya gerek duyulmaz. İşlemler manuel olarak sürdürülür.
- f. Laboratuvara gönderilen kan kültürü şişelerinde çatlak olup olmadığı kontrol edilmeli ve böyle bir durum varsa kabul edilmemelidir.
- ğ. Eğer şişelerde çatlak, kırık bulunmuyor ancak kan bulaşması söz konusu ise şişenin dış yüzeyi antiseptik/dezenfektan madde ile silinmelidir.

- h.** Kan örneği tüplere alınmış ise bu tüplerden kültür yapılamaz.
- i.** Enjektör ile gönderilen, pıhtılaşmış kanlar da kültür için kullanılamaz.
- j.** Böyle durumlarda hastanın hekimi ile hemen iletişim kurularak bilgi verilmeli ve yeniden uygun koşullarda alınmış kan isteğinde bulunulmalıdır.
- k.** Laboratuvarında bulunan kan kültürü otomatize sistemine uyumsuz şişelere alınan kültür örnekleri ret edilmelidir.
- l.** Kan kültürü yapılacak şişelerin kullanım tarihleri geçmiş ise bu şişelerin kullanılması uygun değildir. Kullanım süresi geçmiş şişelere alınmış kan örnekleri de iptal edilmelidir. Mecbur kalınırsa işleme alınıp bu durum raporda belirtilmelidir.
- m.** Kan kültürü şişelerine yeterli miktarda kan alınmamışsa (çok az veya çok fazla) kültür işlemi yapılsa da mutlaka hekim bilgilendirilmeli veya bu durum raporda belirtilmelidir.
- n.** Önerilen sayıda kan kültürü şişesi kullanılmadığında (önerilen sayı 2 set) kan kültürü işlemleri sürdürülse de bu durum raporda belirtilmelidir.
- o.** Bir gün içinde (24 saatte) 4 setten fazla kan kültürü gönderildiğinde, fazladan gönderilen örnekler kabul edilmemelidir.

7. KAN KÜLTÜRLERİNİN İNKÜBASYONU VE İNCELENMESİ

7.1. Genel Kurallar

Kan kültürleri, Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) kültürleri ile birlikte Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarında uygulanan en önemli tanı testidir. Bu nedenle de diğer incelemelerden daha yüksek derecede dikkat gerektirir. İster otomatize sistem içerisinde, isterse de görsel olarak izlensin, kan kültürleri her vardiyada en az bir kez pozitiflik açısından incelenmelidir. İdeal olarak, pozitif sinyal saptanır saptanmaz şişe çıkarılıp değerlendirilmelidir.

Tüm sinyal pozitif şişeler, katı besiyerlerine (kanlı agar, çukulata agar, anaerop kanlı agar gibi) pasajlanmalı ve Gram boyalı preparat hazırlanarak incelenmelidir. Gram boyası sonuçları hastanın kliniğine bildirilmelidir. Çalışmalar, telefonla bildirilen ilk bakı sonucunun hasta tedavisine etkisinin, antibiyotik duyarlılık testi sonucundan daha fazla olduğunu göstermiştir. Özellikle nöbetler için laboratuvarında eleman yetersizliği varsa, diğer laboratuvarlardaki (örneğin acil biyokimya gibi) teknik personele eğitim verilebilir. Otomatize kan kültür sistemi ile ilgili bir arıza oluşması halinde, tüm şişeler pasajlanmalıdır.

7.2. Otomatize kan kültür sistemleri ile inkübasyon

Sürekli izlem sağlayan kan kültürü sistemleri yöntem onaylarını beş günlük bir inkübasyon süresine göre almışlardır. Ancak, klinik olarak önemli izolatların üretilmesi için 3-4 gün gibi daha kısa sürelerin de yeterli olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Kullanıcılar inkübasyon süresinde değişiklik yapmak istediklerinde bunun için kendi şartlarında bir validasyon yapmalıdırlar. Bunun yanı sıra, hastane kliniklerinin de bu değişiklik konusunda bilgilendirilmesi gereklidir. Hangi sistem kullanılırsa kullanılsın üreme saptanmayan şişelerde durumu bildirirken, kaç gün inkübasyondan sonra üreme saptanmadığı belirtilmelidir. Örneğin, "24 saatte üreme saptanmadı", "48 saatte üreme saptanmadı", "5 gün inkübasyon sonunda üreme saptanmadı" gibi. Bu süreye şişeden yapılan pasajların inkübasyon süresi katılmaz.

7.3 Otomatize olmayan sistemlerde inkübasyon süresi ve pozitif kan kültürlerinin saptanması

Sürekli monitörizasyon sağlayan otomatize bir sistem yoksa şişeler üreme açısından, görsel olarak önce 6-12 saat inkübasyon sonunda, sonra da günlük olarak 7 gün süresince izlenmelidir. Şişelere çalkalandığında üreme oranları artar ancak bu durumda görsel değerlendirme yapılmaksızın 12- 18 saat sonra kör pasajlama yapılmalıdır. Üremenin erken saptanması için pasaj sırasında Gram veya akrinin oranj ile boyalı preparat hazırlanmalıdır. Anaerop şişeler ise çalkalama yapılmadan inkübe edilir ve üreme varlığını gösterecek, gaz, bulanıklık, hemoliz gibi belirtiler açısından görsel olarak incelenir. Anaerop şişelerden kör pasaj gerekli değildir.

7.4. Pozitif kan kültürlerinden yapılan preparatların incelenmesi

Bir kan kültüründe üreme belirlendiğinde yapılması gereken en önemli test, Gram boyalı preparat hazırlanması ve incelenmesidir. Eğer kullanılan şişe karbon partikülleri içeriyor ise akrinin oranj yöntemi kullanılmalıdır. Bu tip şişelerde Gram boyama yalancı pozitifliklere neden olabilmektedir. Bu inceleme ile sağlanan bilgi, hastaya ait diğer klinik bilgilerle birleşince, antimikrobiyal tedavi açısından yol gösterici olmaktadır.

Gram boyama sonuçları bildirilirken mümkün olduğunca açık ifadeler kullanılmalı, yanıltıcı veya farklı anlamlara gelen açıklamalar kullanılmamalıdır. Örneğin, "gram pozitif kok görüldü" dendiğinde; stafilokok, streptokok veya enterokoklar anlaşılırken; "gram pozitif diplokoklar ve kok zincirleri görüldü" olası etkeni, pnömokoklar, enterokoklar veya grup B streptokoklar ile sınırlamaktadır. Uzun zincirler açıklaması ise; beta-hemolitik ve viridans streptokokları düşündürcektir.

Gram boyamada mikroorganizma görülmediği halde pozitif üreme sinyali alınan kan kültürlerinin akrinin oranj boyası ve floresein izotiyosiyanat filtresi kullanılarak incelenmesi, *Mycoplasma*, *Campylobacter*, *Brucella* gibi zayıf boyanan mikroorganizmaları saptamada yararlıdır.

7.5. Pozitif kan kültürlerinin ilk pasajları

Mikroskopik inceleme sonuçlarından bağımsız olarak tüm sinyal pozitif kültürler, katı besiyerlerine pasajlanmalıdır. Otomatize sistem yoksa görsel olarak, bulanıklık, gaz kabarcıkları, kan renginin kırmızıdan kahverengiye dönmesi gibi belirtiler aranır. Diğer üreme belirtileri arasında; granüler veya küçük küresel yapıların, küfleri düşündüren pamuksu yapıların ya da kuyruklu yıldız benzer bulanıklık çizgilerinin görülmesi sayılabilir.

Pasaj için kullanılan besiyerleri zengin olmalı, bu amaçla en azından %5 koyun kanı içeren triptik soya agarı ve çukulata agar kullanılmalıdır. Kan kültürü iyice karıştırıldıktan sonra bu iki besiyerine 1-2 damla olacak şekilde aktarılır ve yayılır. Plaklar 35-37°C'de, % 3-5 CO₂ içeren ortamda, hergün kontrol edilerek en az 48 saat inkübe edilir.

Eğer üreme sadece anaerop şişede olursa veya her iki şişede görülen mikroorganizmalar anaeroblara düşündürürse; vitamin K ve hemin ile zenginleştirilmiş bir anaerop kanlı agara da ekim yapılmalı ve anaerop şartlarda 48-72 saat inkübe edilmelidir.

Gram boyama sonuçlarına göre kullanılan besiyerlerine, gram negatif basiller için MacConkey veya EMB agar, mantarlar için mikolojik besiyerleri, eklenebilir. Örneğin *Malassezia furfur* bowling hedeflerine benzer küçük tomurcuklanan mayalar olarak görülür ancak ince bir tabaka zeytinyağı eklenmedikçe rutin besiyerlerinde üreyemez. Eğer kan kültüründe gram pozitif kok görüldüyse, vankomisin veya metisilin direnci için tarama besiyerlerine ekim yapılabilir. Özellikle bağıışık yetmezlikli hastalarda akrinin oranj boyama sonucu olumlu olmasına karşın, rutin besiyerlerinde üreme görülmezse, fırsatçı patojenler için BCYE, tavşan kanlı agar gibi besiyerleri kullanılabilir.

Bazı hızlı üreyen mikobakteriler de rutin besiyerlerinde üreyebilirler. Mikobakteriler gram pozitif sivri uçlu basiller şeklinde görülür, korineform bakterilerle karıştırılabilirler. Bazı alanlarda gram pozitif basiller bazı alanlarda ise düzensiz boyanmış "hayalet" basiller şeklinde görülen küçük koloniler mutlaka aside dirençli boyama ile değerlendirilip mikobakteriler dışlanmalıdır.

7.6. Kan kültür besiyerinden doğrudan tanımlama ve duyarlılık testi uygulanması

Günümüze kadar tüm bakteriyemi etkenlerini saptayabilen bir kan kültür sistemi veya besiyeri geliştirilememiştir. Bazı etkenler kan kültür besiyerlerinde zayıf ürerler ya da hiç üremezler. Rutin kültür sistemleri ile sıklıkla atlanan mikroorganizmalar arasında *Bartonella* spp, *Tropheryma whipplei*, *Mycobacterium* spp, *Mycoplasma* spp, *Streptobacillus* spp, virüsler ve riketsiyalar sayılabilir. Bunlar için özel besiyerleri ve yöntemlerin kullanılması gerekebilir (Bakınız Tablo 1).

Gram boyama ile üreme görülmüş şişelerden hızlı tanı ve antibiyotik duyarlılık testi için, bazı protokoller geliştirilmiştir. Bunlar ticari biyokimyasal paneller ile doğrudan tanımlama, koagülaz gibi bazı bakteriye özgü enzimlerin saptanması, antikor testleri/prob hibridizasyonu ile doğrudan tanımlama, protein-nükleik asit floresans in situ hibridizasyon (PNA-FISH, *C.albicans*, *Staphylococcus aureus* ve *E.faecalis* için FDA onayı almıştır), PCR testleri ve son yıllarda rutin mikrobiyolojiye büyük katkı sağlayan MALDI-TOF MS kullanımı sayılabilir. Universal 16S rRNA (bakteriler için) ve 18SrRNA (mantarlar için) primerleri ile amplifikasyon ve dizi analizi tabanlı testler (NAAT) kan kültüründen doğrudan tür tanımı için kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, bu yöntemler kullanılmadan önce genellikle bakteri hakkında bilgi sahibi olunması (en azından gram negatif basıl, gram pozitif kok) gereklidir. Karışık üremelerde sonuç çıkmasında güçlük olmaktadır, karışık gram pozitif ve gram negatif üremelerde amplifikasyon sisteminin ayrı panellerle kullanılması gereklidir. Bu da ya maliyeti, ya da saf kültür eldesi için bekleme süresini arttıracaktır. Yetişmiş eleman, özel cihaz ve maliyet nedeniyle, bu yöntemler henüz rutin kullanım için uygun gözükmemektedir.

MALDI-TOF MS tekniği de, bir ekstraksiyon basamağını takiben doğrudan kan kültüründe üreyen bakteri ve mayaları tanımlamakta kullanılmaktadır. Bu konuda birçok protokol bulunmaktadır. Tanımlama ile ilgili süre, rutin yöntemlere göre en az bir gün kısalmaktadır ve özellikle ekstraksiyon basamağında "ev yapımı" protokoller uygulanması halinde maliyet de düşmektedir. Chen ve ark.nın Bruker Biotyper Version 3.0 (Becton Dickinson) ve Vitek MS (bioMerieux) sistemlerinin doğrudan kan kültür besiyerindeki üremelerin işlenmesi ile aldığı sonuçları, 16S rRNA analizi ve fenotipik yöntemlerle (Vitek 2.0) kıyasladığı çalışmalarında, MALDI-MS sistemlerinin doğru tanımlama oranlarının Bruker için daha yüksek olmakla birlikte %90'nın üzerinde olduğu, buna karşın süreyi ve maliyeti düşürdüğü gösterilmiştir. Bu sistemler ayrıca karbapenemaz aktivitesi, porin mutasyonu, vankomisin direncindeki duvar değişiklikleri gibi önemli direnç mekanizmalarının doğrudan saptanması için de gelecek vaat etmektedir.

Kan kültür şişesinden direk olarak duyarlılık testi veya direnç genlerini saptayabilecek PCR testleri de uygulanabilmektedir. Bir yöntemde 5 ml kan alınarak besiyeri 160xg'de 5 dakika santrifüje edilir. Süpernatant toplanıp bu kez bakterilerin çöktürülmesi için 650xg'de 10 dakika santrifüje edilir. Bakteri pelleti McFarland 0.5'e ayarlanıp standart duyarlılık testi uygulanır. 2. seçenek bir damla kan kültürünün Beyin Kalp İnfüzyon buyyonuna konup 3-4 saat (0,5 McFarland bulanıklığına erişinceye kadar inkübe edilmesi ve duyarlılık testi uygulanmasıdır.

Doğrudan duyarlılık testleri standart yöntemler olmayıp, bakteri saf kültür olarak elde edildiğinde CLSI veya EUCAST standartlarına uygun bir şekilde duyarlılık testinin tekrarlanması önerilir. Yapılan çalışmalar doğrudan duyarlılık testleri ile standart duyarlılık testi arasında >%95 uyum olduğunu, çok büyük hata oranlarının düşük olduğunu göstermektedir. Ayrıca hasta tedavisine en kısa zamanda katkı sağlanması, böylelikle yatış süresini de azaltması; bunlar yanı sıra önemli direnç paternlerini hızla ortaya konması ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin bir an önce uygulanması, doğrudan duyarlılık testlerinin olumlu yönleri arasındadır. Bu yararlarına karşın, bazı mikroorganizma-

antibiyotik kombinasyonlarında yalancı duyarlılık veya yalancı direnç görülebildiği için, her kurum doğrudan testleri kendi şartlarına göre valide etmelidir. Ayrıca, laboratuvar aynı kültür için iki farklı antibiyogramı fatura edemeyeceğinden ya standart ya doğrudan testin geri ödemesi yapılacaktır. Aynı durum doğrudan tanımlama için de geçerlidir. Dolayısıyla, doğrudan tanımlama ve duyarlılık testlerine geçilmeden önce iş yükü, maliyet ve performans iyice incelenmelidir.

7.7. Kan kültüründe kontaminasyon

Kan kültüründe yalancı pozitiflik veya kontaminasyon çok sık görülen, sağlık sistemine büyük bir maliyet getiren ve sıklıkla klinisyenler için akıl karıştırıcı olan bir durumdur. Kontaminasyon riskinin en aza indirilmesi için, damara girilmeden önce deri antiseptisine özen gösterilmelidir. Kateter veya diğer damar içi gereçler, kısa sürede deri flora bakterileri ile kolonize oldukları için, kan kültürü örneği periferik venlerden alınmalıdır. Sadece kateter ile ilişkili kan dolaşım enfeksiyonu düşünülüyorsa, hem kateterden hem de eş zamanlı olarak periferden birer set kan örneği alınması önerilmektedir. Periferik kan örneği bulunmadığı müddetçe sadece kateterden alınan kültür değer taşımamaktadır ve laboratuvarca değerlendirilse bile, sonuçlar kliniğe kısıtlı olarak bildirilmeli, raporda mutlaka uygunsuzluk da yer almalıdır.

Deri antiseptisinde birçok dezenfektan (tentürdiyot, klorperoksit, klorhekzidin glukonat (KHG), povidon iyodür vb) kullanılmaktadır. Bunlar arasında %2'lik KHG'nin daha üstün olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ancak, hastanelerimizde maliyet nedeniyle alımdan kaçınılmaktadır. Yine alkol ve tentürdiyot veya KHG deri dezenfektanı olarak povidon iyodüre üstündür. Tentürdiyot ve KHG etkisi 30 saniyede görülürken, povidon iyodürle bu süre 1,5-2 dakikaya çıkmaktadır. Oysaki ülkemizde birçok klinikte bunun aksi düşünülmektedir. Bu nedenle eğitim programında bu konu mutlaka vurgulanmalıdır.

Kan kültürü kontaminasyonu sık olarak görülmekle birlikte yine de %3 oranını geçmemelidir. Bazı ülkelerde kan kültürü kontaminasyonu hizmet kalitesi açısından indikatör olarak kabul edilmektedir.

Kan kültürlerinin kontaminasyonunu en aza indirmek için her laboratuvarında; doğru kan kültürü alım teknikleri ve kan kültüründe sık olarak rastlanan kontaminantlar (örneğin, koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), viridans streptokoklar, *Corynebacterium* spp ve *Bacillus anthracis* dışı *Bacillus*'lar) için yapılacak işlemler ve raporlama ile ilgili yazılı bir politika (yönerge) bulunmalıdır. Kontaminant üreme oranları ve en sık kontaminasyon görülen klinikler belirlenerek bu kliniklere multidisipliner bir ekiple (klinik mikrobiyolog, enfeksiyon hastalıkları uzmanı, hemşireler) eğitim verilmesi ve bu eğitimlerin yılda en az iki kez tekrarlanması, kontaminasyon oranlarının azaltılması açısından önemlidir.

Kan kültürü kontaminasyonu klinisyen kadar laboratuvar için de akıl karıştırıcı bir durumdur. Kan kültürü kontaminasyonu ile ilgili olarak en sık karşımıza çıkan mikroorganizmalar; KNS, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp, *Propionibacterium* spp, *Aerococcus* spp, *Micrococcus* spp. uygun bir durumda sistemik kan-dolaşım enfeksiyonu da oluşturabilirler. Kontaminant ayırımı için belirlenmiş standart bir uygulama olmadığı için her laboratuvar genel kurallar içerisinde kendi standartlarını geliştirmelidir.

Birçok durumda potansiyel kontaminant bakteri, tek bir kan kültürü setinin bir veya her iki şişesinde saptanır. İkinci bir kan kültürü olmaması halinde bu izolatin önemine karar verilemez. Laboratuvarında yukarıdakiler gibi düşük virulanslı bir mikroorganizma üremiş ise, yapılacak laboratuvar testleri de sadece önemli mikroorganizmaları dışlayacak kadar olmalıdır. Kontaminantlar için antibiyogram yapılmaz, yapılsa bile bildirilmez. Ancak her izolat rapor çıktıktan sonra saklanmalıdır. Böylelikle aynı suşun bir başka kan kültüründen daha üretilmesi halinde ek işlemler yapılabilir. Böyle bir durumda tam tanımlama yapılmalı ve duyarlılık testi uygulanmalıdır.

7.8. Polimikrobiyal bakteriyemiler

Kan dolaşım enfeksiyonundan birden fazla bakterinin sorumlu olması durumu yani polimikrobiyal bakteriyemilerin gerçek insidansı bilinmemektedir. ABD'de 20 yıllık bir süreyi kapsayan bir çalışmada insidansın %4.7 olduğu ancak çocuklarda %10'a, bağışık yetmezlikli hastalarda ise %30'a ulaşabildiği bildirilmiştir. Genel olarak ilk üreme sinyalinin hemen sonra şişe içeriği pasajlanıp üreme saptanınca da geri kaldırılmadığı için bu verilerin doğrulanması zordur.

Polimikrobiyal bakteriyemiler için risk faktörlerinin başında dış çekimleri gelmektedir. *Pseudomonas aeruginosa* da etkenler arasında ise, mortalite artmaktadır. Bunun dışında polimikrobiyal bakteriyemi barsak, deri ve diğer mukozalarda bulunan ve bakteri translokasyonuna yol açan bir hastalığın belirtisi olabilir. Bu nedenle polimikrobiyal üremelerde etkenlerin tek tek tanımlanması gerekir.

Eğer polimikrobiyal bakteriyemi etkenleri arasında olası kontaminantlar yer alıyorsa, kültürün önem derecesi düşer. Bu durumda kontaminantlarla ilgili laboratuvar yönergesi uygulanır. Tüm potansiyel kontaminantlar bir düzeye kadar tanımlanır ve ileride tekrar aynı hastadan izole edilmesi halinde işlemlenmek üzere stoklanır.

7.9. Kan kültür izolatlarının saklanması

Kanıtlanmış kan dolaşım enfeksiyonunda etken olması olası izolatlar ilgili laboratuvarın protokolüne göre seri pasajlarla, gerektiğinde ek test uygulayabilmek için en az birkaç gün saklanmalıdır. Ayrıca bu izolatlar derin dondurucuda daha uzun süre saklanarak hastalarda tekrarlayan kan dolaşım enfeksiyonunun değerlendirilmesinde ve diğer araştırma vb. amaçlarla kullanılabilir.

Enfeksiyonu olan hastalarda kan kültürü izolatu son derece değerlidir. Aktif test döneminde izolatların saklanması, uygun besiyerlerine seri pasajların yapılmasıyla sağlanır. Farklı mikroorganizmalarda pasajlama sıklığı; intrensik canlılık, fenotipik ve genotipik stabilite farklılıkları nedeniyle değişir. Her iki-üç günde bir pasajlamak mikroorganizmayı en az birkaç pasaj süresince saklamak için uygun bir yöntemdir.

Ek test gerektiği durumda mikroorganizmanın canlandırılabilmesini güvence altına almak üzere laboratuvarlar, kan kültürü izolatlarının kısa ve uzun süre saklanması için prosedürler geliştirmelidir. Tüm kan kültürü izolatları bilinen kontaminantlar dışında 7-10 gün saklanmalıdır. Olası kontaminantlar benzer bir mikroorganizmanın aynı hastada izole edilmesi durumunda tekrar çalışılabilmesi ve kıyaslanması amacıyla 10-15 gün saklanmalıdır. Bu durum özellikle ilk kan kültürü sonucu ile klinik önemi belirlenemeyen mikroorganizmalar için önem taşır.

Bakteri ve mayaları kısa süreli saklama için en basit yaklaşım agar besiyerinde muhafaza etmektir. Bu kültürler oda ısısında saklanabilir; fakat 5-8°C arasında saklamak canlılığın daha uzun sürmesini sağlayabilir. Bu şekilde saklanan kültürler kurumaya eğilimlidir. Fakat çoğu klinik önemi olan bakteri günler ya da haftalarca canlı kalır. Besiyerini su kaybını önlemek amacıyla parafilmle kapatmak orta dönem saklamada da canlılığı koruyabilir. Bu yaklaşımların yeterliliğine yönelik detaylı bir tanımlama bulunmamaktadır ve iç ortam koşullarına bağlı olarak her laboratuvarın saklama başarısı farklı olacaktır.

Uzun süreli saklama için ultradüşük ısıda (-70 °C) saklamak veya liofilizasyon önerilir. Steril kriyoprotektif ajanlar (%10-20 yağsız süt, %10 gliserol, %5 DMSO gibi) mikroorganizmaların ultradüşük ısı derecelerinde saklanmasını ve canlı kalmasını destekler. Ancak her birisinin optimal etkisi mikroorganizmaya göre değişir.

Bakterilerin dondurulmuş stok kültürlerini hazırlamak üzere çok sayıda teknik söz konusudur. %10 yağsız süt ya da %10 gliserol eklenmiş triptik soy broth dondurucu besiyeri olarak kullanılabilir.

Steril bir vialin içerisine yaklaşık 1 ml dondurucu besiyeri eklenmesi uygun bir yöntemdir. Kan kültürü izolatının yeni bir pasajında üreyen koloniler steril bir eküvyonla alınır. Eküvyon dondurucu besiyerine daldırılır; vial kapağının üzerinde kalan kısmı kırılır. Subkültür gerektiğinde vial yalnızca çözdürülür; eküvyon, alevden geçirilmiş bir forsepsle alınır; izolasyon için katı besiyerine transfer edilerek pasajlanır.

Bakterilerin donmuş süspansiyonlarını saklama amacıyla lineer deliği olan plastik boncuk içeren ticari ürünler de bulunmaktadır. Mikroorganizmanın buyyonda süspansiyonunu hazırladıktan sonra sıvının fazlası uzaklaştırılır; boncuklar dondurulur. Kültürü tekrar canlandırmak için tek boncuk alınır, agar yüzeyinde yuvarlanır veya buyyon içerisine atılarak inkübe edilir.

Uzun süre saklamak için izolatları hazırlamada kullanılan diğer bir yöntemde, taze buyyon kültürünün geç üreme fazından bir miktar santrifüj edilir ve çökelti kriyoprotektif ajanın uygun konsantrasyonda eklendiği yeni taze sıvı besiyerinin birkaç mililitresi ile resüspande edilir. Dondurulmuş kültürler mikroorganizmayı tekrar üretmek gerektiğinde 35 °C'lik su banyosunda hızla çözülerek mikroorganizmanın uygun pasajı yapılabilir. Genellikle kriyoprezervasyon viallerine 0.5-1 ml süspansiyon transfer edilir; bu vialer ultradüşük ısılara dayanıklı, sıkı kapaklı olmalı ve üzerlerinde etiket yapıştırmak için yeterli alan bulunmalıdır. İzolatları tekrar elde etmeyi kolaylaştırmak için saklanan her izolatın nereye saklandığı kaydedilmelidir.

Liyofilizasyon çoğu bakterinin uzun süre saklanması için en güvenilir yöntem olmakla birlikte küf ve bazı bakterilerde intrasellüler sıvının uzaklaştırılması nedeniyle hasar meydana geldiği için uygun yöntem olmayabilir. Liyofilizasyon için özel ekipman, saklama vialeri ve prosedürler gerekir.

Bunlar dışında, boncuklu ticari besiyerleri de bulunmaktadır. Bu besiyerlerinde ise, tüp içerisinde bakteri süspansiyonu yapıldıktan sonra sıvının fazlası uzaklaştırılır. Tüpler derin dondurucuya kaldırılır. Tekrar canlandırmak için tüpten bir boncuk alınarak katı besiyerine aktarılır.

Sonuç olarak tüm anlamlı kan kültürü izolatları en az altı ay dondurulmuş stok kültürü olarak muhafaza edilmelidir. Yeterli kaynağı olan merkezlerde depolama alanı uygun olduğu durumda bu süre mümkün olduğunca uzun tutulmalıdır. Tekrarlayan enfeksiyonu olan bir hastadan elde edilen izolatlar, antimikrobiyal tedavi sonrası direnç paterni değişen veya yorum karmaşası bulunan (örneğin aynı türle endojen enfeksiyonu olan hasta) izolatlar için saklama özellikle önem taşır. Dondurucu alanı kısıtlı ise laboratuvarlar enfeksiyon kontrol hekimi ile görüşerek, diğer kültürler için belirlenmiş sürelerden daha uzun süre saklanmak üzere karşılıklı olarak kararlaştırılmış bir izolat listesi hazırlayabilir.

8. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE RAPORLAMA

8.1. Sonuçların değerlendirilmesi

Pozitif kan kültürlerinin yorumlanması çoğunlukla basit olmakla birlikte kimi zaman klinisyen ve klinik mikrobiyoloğu değerlendirme güçlüğüne düşürebilir. Bu durumda doğru yorumlama yapabilmek için çok sayıda laboratuvar verisi hastanın klinik tablosu eşliğinde değerlendirilmelidir.

Farklı venlerden alınan kan kültürü setlerinin tümü ya da çoğunluğunda aynı etkenin ürettiği bir pozitiflik paterninin, etkene bakılmaksızın gerçek kan dolaşımı enfeksiyonu varlığını gösterme olasılığı son derece yüksektir. Benzer şekilde, pozitif kan kültürlerinden izole edilen etkenlerin tipi de önemlidir. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* hemen her zaman gerçek kan dolaşımı enfeksiyonunun göstergesidir. Aksine *Corynebacterium* spp, *Propionibacterium* spp. hemen her zaman kontaminasyonu gösterir.

Viridans grup streptokoklar, koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) ve enterokoklar ürettiğinde gerçek kan dolaşımı enfeksiyonu göstergesi olarak yorumlanmaları daha zordur. Bazı çalışmalarda gerçek kan dolaşımı enfeksiyonunu yansıtırma oranı viridans grup streptokoklarda %38, KNS'lerde %15 ve enterokoklarda %78 olarak bildirilmiştir.

Özellikle KNS'ler kan kültürü kontaminantı olması en olası etkenlerden biri olmakla birlikte implantı ve kalıcı kateteri olan hasta popülasyonunda gelişen kan dolaşımı enfeksiyonlarının önemli bir nedeni olarak da karşımıza çıkmaktadır. Bu olguların yorumlanmasında birden fazla kan kültürü setinde pozitiflik söz konusu olduğunda KNS'lerin tür düzeyinde tanımlanması faydalı olabilir. Eğer aynı KNS türü çok sayıda kan kültürü setinden (farklı venlerden alınmış kültürler) izole edildiyse kontaminasyona göre gerçek bakteriyemiye yansıtırma olasılığı artar. Bu bilgi olmadan KNS pozitif kan kültürü setlerinin sayısını dikkate almak çok da güvenilir bir yöntem değildir.

8.2. Kontaminasyon olarak yorumlama kriterleri

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

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

KNS'ler kalıcı aletler ve protezler üzerinde kolonize olabildiği ve biyofilm oluşturabildiği, bunun yanı sıra insan derisinin kalıcı florasında yaygın olarak bulunduğu için kateter ilişkili septisemi ve yanlış pozitif kan kültürünün başta gelen etkenleridir. Çoğu olguda, yalnızca tek kan kültürü alındığı durumda, şişelerin birinde veya her ikisinde de potansiyel bir kontaminant ürettiğinde ve kıyaslamak için ikinci bir kan kültürü alınmamış olduğunda, pozitif kültürün klinik anlamını yorumlamak imkansızdır. Böyle bir durumda laboratuvar tarafından duyarlılık sonucu bildirildiğinde, hekimler yasal ve uygulamaya yönelik gerekçelerle tedavi başlamak zorunda kalabilir.

Bu nedenle düşük virülans potansiyeli olan bir izolatın tek bir kan kültürü setinden (bir veya her iki şişede de) izole edilmesi durumunda yapılacak identifikasyon, fenotipik olarak benzer ancak tıbbi yönden anlamlı mikroorganizmaları güvenilir bir şekilde ekarte edecek düzeyde tutulmalıdır. Örneğin *Streptococcus pneumoniae* ile viridans grup streptokok ayırımına yönelik safrada erime testi yapılması; *S.aureus* ve KNS ayırımı için aglütinasyon veya plazma koagülaz testi; *Bacillus anthracis* ve diğer *Bacillus*'ların ayırımı için hareket testi veya hemoliz varlığının gösterilmesi gibi.

Kontaminant olduğu düşünülen izolatlarda rutin olarak duyarlılık testi yapılmasına gerek yoktur; ancak tüm izolatlar aynı hastadan daha sonra alınan kan kültürlerinde aynı mikroorganizmanın üremesi durumunda ileri çalışma yapabilmek üzere saklanmalıdır. Bu durumda her iki izolatın da tam identifikasyonu ve duyarlılık testi yapılmalıdır.

Farklı kan kültürlerinden aynı mikroorganizmanın birden çok kez izole edilmesi durumunda başlangıç izolat(lar)ının tam identifikasyonu ve duyarlılık testleri yapılmalıdır. Kontaminant

izolatların tüm laboratuvar işlemlerine tabii tutulmasının personel iş yükünü ve kurumsal maliyetleri artırdığı unutulmamalıdır. Bu nedenle her laboratuvarın kan kültürü kontaminantlarının değerlendirmesi için yapılacak işlemleri en aza indirmeye yönelik laboratuvara ve kliniğe dayalı bir algoritması bulunmalıdır. Bunun çeşitli örnekleri uygulanmaktadır.

Richter ve ark.ları kan kültürü kontaminantlarına yönelik işlemleri en aza indirmek için bir algoritma araştırmış, doğrulamış ve uygulamaya koymuştur. KNS, aerobik ve anaerobik difteroidler, *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. ve viridans grup streptokoklar belirli kriterler sözkonusu ise kontaminant olarak kabul edilmiştir.

İki veya daha fazla kan kültürü alınmış ve yalnız biri pozitif olduğunda izolat "olası kontaminant" olarak rapor edilerek duyarlılık testi yapılmamış ancak hekim laboratuvarı aradığında duyarlılık testi yapılmıştır. Yalnızca tek kültür alınmış ve olası kontaminantlardan biri ürediyse konsültan bir hekim hasta dosyasını inceleyerek yayımlanan veriler ışığında izolatın klinik önemine karar vermiştir. İzolatın kontaminant olduğuna karar verildiğinde duyarlılık testi yapılmamıştır.

İki veya daha fazla kan kültürü alınmışsa ve 48 saatlik dönem içinde iki kültür pozitifse aşağıdaki iki yaklaşımdan biri uygulanmıştır. Eğer izolat viridans grup streptokoksa klinik olarak anlamlı olduğu düşünülerek tüm işlemler uygulanmış, eğer diğer olası kontaminantlardan biri ürediyse konsültan hekim hastayı değerlendirmiş ve laboratuvar işlemleri konsültan hekimin klinik öneme yönelik kararı doğrultusunda ilerletilmiştir.

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

Weinstein ise mikrobiyoloji laboratuvarında her zaman bir konsültan hekimin bulunamayacağını göz önüne alarak benzer ancak modifiye bir protokol uyguladığını belirtmiştir. Bu protokolda aynı etkenler kontaminant olarak düşünülmüştür.

İki veya daha fazla kan kültürü alınmış ve yalnızca biri pozitifse tür identifikasyonu ve duyarlılık testi yapılmamış ve izolat "olası kontaminant" olarak rapor edilmiştir. Eğer tek bir kan kültürü alınmış ve kontaminant olması olası bir etken üremişse aynı yaklaşım uygulanmıştır. İzolat "*klinik önemi belirsiz, eğer çalışılmasını istiyorsanız laboratuvarı arayınız*" notu ile raporlanmıştır.

İki veya daha fazla kan kültüründe 48 saatlik dönemde KNS dışında olası kontaminant ürediyse, tüm laboratuvar işlemlerine devam edilmiştir. Eğer izolatlar aynı ise identifikasyon ve duyarlılık sonuçları rapor edilmiştir. Eğer izolatlar farklı ise duyarlılık testi uygulanmadan sonuç "*olası kontaminant*" olarak rapor edilmiştir.

İki veya daha fazla kan kültüründe KNS ürediğinde tür identifikasyonu ve duyarlılık sonuçları rapor edilmiştir. İzole edilen suşların biyokimyasal profilleri ve antibiyogram sonuçları aynı ise bu suşların aynı olduğu kabul edilmiştir (bunun kanıtlanmasının yalnızca moleküler tiplendirme ile mümkün olduğu unutulmamalıdır). Bu durumda izolatın klinik olarak anlamlı bir bakteriyemiye yansıtması olasılığı yüksek kabul edilerek identifikasyon ve duyarlılık sonuçları klinisyene rapor edilmiştir. Ancak biyokimyasal profil ve antibiyogram sonuçları aynı değilse (iki veya daha fazla fark) izolatların kontaminasyonu yansıtma olasılığı çok daha yüksek görülmüştür; bu durumda laboratuvar iki farklı KNS tanımlandığını rapor etmiş ve duyarlılık sonucu vermemiştir. Bu yöntem klinik olarak anlamlı olmakla birlikte bu algoritmanın da sınırlamaları vardır.

8.3. Polimikrobik bakteriyemi

Pozitif kan kültürlerinin çoğunluğu pasajlandıktan sonra tekrar inkübe edilmediğinden kontaminasyonsuz gerçek polimikrobiyal bakteriyemi insidansı bilinmemektedir. Polimikrobiyal bakteriyemi görülme olasılığı hastanın yaşı, altta yatan hastalığı ve uygulanan işlemler gibi faktörlerle ilişkili bulunmuştur. Dış çekimi polimikrobik bakteriyemi için bilinen bir risk faktörüdür.

Tek başına veya diğer bakteriler varlığında izole edilen, yüksek patojenitesi olan *Pseudomonas aeruginosa*, *S.aureus* veya *E.coli* tam identifikasyon ve duyarlılık testi yapılmasını gerektirir. Potansiyel kontaminant izlenimi veren KNS, *Bacillus* türleri, *Coryneiform* gram pozitif aerobik basiller veya *Propionibacterium acnes* izole edilen bakteriler arasında yer alabilir; bu durumda gerçek patojenin varlığının klinik önemini yorumlamak zordur. Bu tip polimikrobiyal üremelerde, kontaminantlar başlığındaki yaklaşımlar geçerli olur; tüm potansiyel kontaminantlar tanımlanır, bir sonraki kan kültüründe aynı etken izole edilirse, daha sonra birlikte çalışılır.

8.4. Sonuçların rapor edilmesi

Pozitif kan kültürleri, diğer laboratuvar sonuçları ile birlikte, hasta ile ilgili tedavi kararının verilmesinde çok önemlidir. Bu nedenle klinik olarak anlamlı bulunan sonuçlar hasta ile ilgilenen hekime mümkün olduğunca çabuk rapor edilmelidir. Aynı hastadan daha önce alınan idrar veya balgam gibi diğer kültür sonuçlarının gözden geçirilmesi, hastanın hekimini aramadan önce izolatu tanımlanmasına yönelik yardımcı ipuçları sağlayabilir. Pozitif set sayısı (set=tek bir damar girişinden alınan şişe[ler]), laboratuvara gönderilen toplam set sayısı, kanın toplanmasından pozitifliğe kadar geçen süre ve yaymada görülen mikroorganizmanın tanımı rapor edilmelidir. Hızla yapılan raporlamanın hastanın lehine önemli etkileri olduğu çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir.

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

Bazı durumlarda tüm sonuçların hekimlere telefonla bildirilmesi gerekmeyebilir. Hangi sonuçların telefonla haber verileceği ve pozitif kan kültürü sonuçlarının hangi kişilere bildirileceğine yönelik algoritmalar her sağlık kuruluşuna özel hazırlanmalıdır. Örneğin bazı kurumlarda bir kan kültürü setinden elde edilen tek bir KNS izolatu hastanın hekimine rapor edilmezken, ikinci bir sette KNS izole edildiğinde sonuç rapor edilir ve ileri tetkikler başlatılır. Bunun aksine pediatrik bir hastadan alınan kanda herhangi bir KNS izole edildiğinde laboratuvara tek bir şişe bile gönderilmiş olsa derhal telefonla haber verilir. Pozitif sonuçların hemşireye, ünite sekreterine veya hekime bildirilip bildirilmeyeceği laboratuvarın kurumsal politikası dahilindedir. Bilginin hangi yolla aktarılacağı da kurumdan kuruma değişir.

Klinik olarak anlamlı pozitif kan kültürleri "kritik değer" olarak kabul edilir ve raporlanır. Kritik bir değeri alan kişinin bu bilgiyi yazması ve telefon açan kişiye geri okuması gerekir. Laboratuvarda çalışan kişinin, telefona bakan kişiye "lütfen yazdığınız sonucu bana okur musunuz?" demesi gereklidir. Kaydı alan kişi kim olursa olsun, mikrobiyolog raporu bildirdiği kişiyi, tekrar okuttuğunu, raporun bildirim tarihini ve zamanını dökümanete etmelidir.

Kayıtlar düzenli aralıklarla, tercihan günlük olarak, kan kültürlerinde üreme olup olmadığı yönünden güncellenmelidir. Bu, laboratuvarın örneği kabul ettiğini de belgelemelidir. ".....günde üreme saptanmamıştır" gibi bir rapor da kabul edilebilir.

Kan kültüründe mikroorganizma saptandığında bir ön rapor hazırlanır, basılı ya da elektronik olarak laboratuvar bilgi yönetim sistemine kaydedilir. Raporlarda pozitiflik saptanmadan önce şişenin inkübe edildiği toplam gün sayısı, aerobik veya anaerobik gibi şişenin tipi ve örneğin kaynağı (santral venöz kateter veya sağ kol gibi) yer almalıdır. Yeni bilgi saptandığında rapor güncellenmelidir.

Belirlenmiş inkübasyon süresi sonunda negatif sonuçlanan raporlar şişenin inkübe edildiği gün sayısını içermelidir. Şişenin cihaza yüklenmesinde gecikme, yetersiz miktardaki örnekler gibi işleme ya da kan örneğiyle ilgili, sonucu etkileyecek yorumlar rapora eklenmelidir.

İzolatin olası klinik önemini yorumlamaya yönelik açıklamalar, dikkatle ifade edilmeli ve bu açıklamaların dile getirilme biçimine enfeksiyon hastalıkları uzmanı veya kurumdaki diğer ilgili tıbbi uzmanlarla birlikte karar verilmelidir. Yanlış yorumlanabilmesi nedeniyle raporlarda kontaminant sözcüğünü kullanmaktan kaçınmak önemlidir. Olası kontaminant bir etkeni rapor ederken tercih edilebilecek ifade "bu izolat, kan alma işlemi ile ilişkili cilt florasına ait bir mikroorganizmadır; ileri çalışma gerekiyorsa mikrobiyoloji laboratuvarı ile iletişime geçiniz" şeklinde olabilir.

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

8.5. Raporlama aşamaları

Kan kültürü sonuçları, pozitif ya da negatif de olsa, hasta bakımı yönünden kritik öneme sahiptir. Bu nedenle kültür işlemi süresince kan kültürü sonuçlarının raporlanması etkili ve tutarlı olmalıdır. Rapor, hastanın doktorunun istenen bir kan kültürüne yönelik olarak kültürün durumunu ve uygulanan herhangi bir test sonucunu hızlı ve doğru olarak değerlendirmesine yardımcı olmalıdır. Farklı tipte laboratuvarlar için çok sayıda raporlama mekanizması bulunmakla birlikte genel yaklaşım benzer olmalıdır.

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

Örneğin durumu

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

- Kan kültürü istemi yapıldı mı?
- Örnek alındı mı?
- Örnekte hangi test (aerobik, anaerobik, mikobakteri, mantar vb.) istendi?
- Örnek laboratuvar tarafından teslim alındı mı?
- Örnek istemi yapılan test için uygun mu?
- İstenen test çalışılmaya başlandı mı?

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

Kültür verileri

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

Yazılı ön rapor

Örneğin durumunu raporlamaya yönelik aşağıdaki ifadeler kullanılabilir:

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

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

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

Yazılı son rapor

Son kan kültürü sonucu aşağıdakilerden birini içermelidir:

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

Son yazılı rapor mümkünse aşağıdakileri içerir:

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

8.6. Kritik değer raporu (sözel ve yazılı)

Hasta bakımı üzerinde önemli etkiye sahip olabilecek herhangi bir kan kültürü test sonucu laboratuvar politikasına göre rapor edilmelidir. Bu politikalar, hizmet verilen klinisyenlerle konsülte edilerek, sağlık hizmeti standartlarına uyumu sağlayacak biçimde düzenlenmelidir. Alternatif bir iletişim

stratejisi kullanılmadığı sürece, kritik değerler aşağıda belirtileceği şekilde sözel olarak bildirilmeli, sonuçların zamanında ve doğru bildirimini güvence altına alacak şekilde valide edilmelidir. Ayrıca kritik değer sonuçlarının klinisyen tarafından alındığı kaydı dökümante edilmelidir.

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

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

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

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

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

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

Laboratuvar protokolüne göre tüm kritik değer sözel raporlamalarını takiben yazılı ve/veya elektronik raporlama yapılmalıdır.

9. KOLONİZE VASKÜLER KATETER KAYNAKLI ENFEKSİYONLARIN LABORATUVAR TANISI

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

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

Altındaki gereçler ise santral kateter olarak kabul edilmez:

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

"İntrodüserler": Damar içi kateter olarak kabul edilmekle birlikte ucunun bulunduğu yere ve kullanım şekline bağlı olarak santral kateter de olabilirler.

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

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

9.1. Mikrobiyolojik tanı

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

2005 yılında yayınlanan bir meta analizde KİKDE tanısında en güvenilir yöntemin eşleştirilmiş kantitatif kan kültürü olduğu bildirilmiştir. Tanısallık duyarlılık, özgüllük (her ikisi de >%75) ve negatif prediktif değer (>%99) açısından, "kateterden alınan kantitatif kan kültürü" ve "akridin oranj lökosit sitospin testi" yöntemlerinin de oldukça güvenilir olduğu belirtilmektedir. Kateter ucunun kantitatif kültürü ile de semikantitatif kültüre göre daha güvenilir sonuçların elde edildiği aynı

meta analizde bildirilmektedir. Bununla birlikte kateter ucu kültürlerine dayalı tanısal yöntemlerde kateterin çıkarılması (veya değiştirilmesi) gerekmektedir. Bu tanısal yöntem kullanılırken mutlaka eşzamanlı periferik venden kan kültürünün alınması ihmal edilmemelidir.

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

9.2. Santral venöz kateterler ve portlar ile ilgili öneriler:

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

Kültür sonuçlarının değerlendirilmesi:

1. Kateterin korunması düşünülen olgularda;

- Her iki sette (identifikasyon ve antimikrobiyal duyarlılık özellikleri açısından) aynı mikroorganizma izole edilirse ve başka bir enfeksiyon odağı bulunmuyorsa KİKDE düşünülür.
- Her iki sette aynı mikroorganizma izole edilir ve kateterden alınan kan kültürleri periferik kan kültürüne kıyasla ≥ 120 dakika daha erken pozitif sinyal verirse ve başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE düşünülür. Pozitif sinyal süresi farkının < 120 dakika olması KİKDE olasılığını ekarte ettirmez.
- Lizis/santrifugasyon gibi kantitatif kan kültürüne olanak tanıyan bir yöntem kullanıldığında; her iki kan kültüründe de üreme olması ve kateterden alınan kan kültüründeki koloni sayısının periferikden alınan kan kültürüne kıyasla en az beş kat daha fazla olması halinde, başka bir enfeksiyon odağı da yoksa KİKDE düşünülür.
- Yalnızca kateterden alınan kan kültüründe üreme olursa kesin yorum yapılamaz; KİKDE olabileceği gibi kateter kolonizasyonu veya kültür alınması sırasında meydana gelmiş bir kontaminasyon olabilir.
- Yalnızca periferik venden alınan kan kültüründe üreme olması halinde; kesin yorum yapılamamakla birlikte, üreyen etken *Staphylococcus aureus* veya *Candida* spp. ise ve başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE düşünülür.
- Her iki kan kültürü de negatifse KİKDE düşünülmez.

2. Kateterin çıkarılmasına karar verilen olgularda;

- Farklı periferik venlerden iki set (20'şer ml) kan kültürü alınmalıdır.
- Kolonize/enfekte olduğu düşünülen kateter çıkarılarak distal ucundan aseptik tekniğe dikkat edilerek kesilen 5 cm'lik parça laboratuvara gönderilmeli, Maki'nin semikantitatif yöntemi ile (13) veya vorteksleme ve sonikasyon ile birlikte uygulanan kantitatif yöntemle ekilmelidir.
- Bir veya daha fazla kan kültüründe üreme olması ve aynı etkenin hem periferik kan hem de kateter ucu kültüründe izole edilmesi halinde KİKDE düşünülür.

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

9.3. Kısa süreli periferik kateterler ile ilgili öneriler:

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

Kültür sonuçlarının değerlendirilmesi:

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

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

10. STANDART BESİYERLERİNDE ÜREMESİNDE GÜÇLÜK ÇEKİLEN MİKROORGANİZMALARIN SAPTANMASINDA KONVANSİYONEL YÖNTEMLER

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

Broth besiyeri ve agarı bir arada içeren "bifazik sistemler" ve "lizis-santrifügasyon" diğer kan kültürü yöntemleri olup lizis santrifügasyon sistemi özellikle üremesi zor olan bakteriler ve mantarların elde edilmesinde tercih edilen bir yöntemdir.

Konvansiyonel yöntemler için inkübasyon süresi yedi gün olarak önerilmekte olup zor üreyen (yavaş üreyen) bakteriyel patojenler (*Bartonella*, *Legionella*, *Brucella*, *Nocardia*) için ve dimorfik mantarlarda daha uzun süreli inkübasyonlara ihtiyaç duyulmaktadır. Otomatize kan kültürü sistemlerinde ise; kolay üreyen patojenler için 24-36 saatlik (2-3 gün) inkübasyon "pozitif sinyal" için yeterli olurken, standart besiyerinde üremesinde güçlük çekilen mikroorganizmalarda beş güne kadar inkübasyon gerekebilmektedir.

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

Sürekli (persistan) negatif kan kültürü sonucuyla giden şüpheli bakteriyemi ya da fungemi varlığında zor üreyen mikroorganizmaların üremesini arttıracak alternatif kan kültürü metotları düşünülmelidir. (Tablo 4).

Tablo 4: Değişik klinik durum ve sendromlarda kan kültürü zamanlaması için öneriler.	
Durum veya Sendrom	Öneriler
Şüpheli akut primer bakteriyemi veya fungemi, menenjit, osteomyelit, artrit veya pnömoni	İki veya üç kan kültürü (biri soldan biri sağdan, klinik tanıya destek olabilecek diğer bölgelerden)
Nedeni bilinmeyen ateş (okkült apse, tifoid ateş, bruselloz, ve nedeni bilinmeyen diğer ateşli sendromlar)	İki veya üç kan kültürü (biri soldan biri sağdan, klinik tanıya destek olabilecek diğer bölgelerden). Eğer bunlar negatif ise 24-48 saat sonra aynı şekilde iki ve üç kan kültürü örneği alınmalı.
Sürekli Negatif kan kültürü ile karakterize şüpheli bakteriyemi veya fungemi	Alternatif kan kültürü metodları önerilmektedir (Mikobakteri, mantarlar ve zor üreyen bakteriler)

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

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

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

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

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

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

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

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

10.2. *Bartonella*:

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

10.3. *Brucella*:

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

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

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

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

10.4. *Campylobacter*:

Helicobacter ile birlikte *Campylobacter*; küçük, ince ve kıvrık çomaklardır. Pozitif işaretli şişelerde etkeni görebilmek için akrinin oranj boyasının kullanımını gerektirebilmektedir. *Campylobacter*'in *C. jejuni*, *C. lari*, ve *C. fetus* cinsleri dahil pek çok türü zaman zaman kandan izole edilmektedir ve genellikle 5 günlük protokole çoğalırlar. Pasajlar, Columbia kanlı-agar bazlı plaklarda, özgül Campy besiyerinde (mümkünse antibiyotiksiz) inkübe edilmelidir. İnkübasyon mikroaerofilik bir ortamda 35-37°C'de 3 güne kadar olmalıdır.

10.5. *Francisella tularensis*:

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

10.6. HACEK grubu:

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

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

10.7. *Helicobacter*:

Helicobacter cinaedi ve diğer türler (örneğin; *H. westmeadi*) genellikle immün düşkün hastaların kanından 7 günlük inkübasyondan sonra elde edilmiştir. *Helicobacter*, Gram boyama ile görülmediğinden akrinin oranj boyasına gerek duyulmaktadır. Ayrıca 7 günlük inkübasyonun sonunda zenginleştirilmiş kanlı agara terminal pasajlar ve sonrasında hidrojen zengin mikroaerobik ortam inkübasyonu bakteri eldesi için optimal koşulları sağlayacaktır.

10.8. *Legionella*:

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

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

10.9. *Leptospira*:

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

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

10.10. Mantarlar:

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

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

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

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

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

10.11. *Mycobacterium*:

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

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

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

Hücre içi bakterileri ortaya çıkarmak için kan antikoagülanlı (heparinli) tüpe veya lizis santrifügasyon tüpüne alınıp (EDTA veya asit-sitrat tüpü olmayacak) direkt plak besiyerine (7H-11) ve otomatize araç sıvı besiyerlerine (broth) inokülasyon için laboratuvara gönderilebilir.

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

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

Kandan mikobakteri eldesinde Isolatör etkin bulunmuştur. AIDS'li hastalarda *M. avium*-*M. intracellulare* kompleksi günümüzde nadiren görülmektedir, tedavi başarısı Pediatrik 1,5 ml Isolatörden Middlebrook 7H11 ya da 7H12 agar plaklarına ekim ile takip edilebilir.

10.12. *Mycoplasma*:

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

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

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

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

11. ÖRNEĞİN LABORATUVARDA İŞLEME ALINMASI SIRASINDA DİKKAT EDİLMESİ GEREKEN BİYOGÜVENLİK UYGULAMALARI

Çok yüksek riskli mikroorganizmalarla çalışılmadığı sürece kan kültürü ile ilgili tüm işlemler için biyogüvenlik seviyesi 2 olan bir laboratuvar yeterlidir. Bu bölümde kan kültürünün alınmasından işi biten şişelerin imhasına kadar geçen tüm süreçte çalışanları, toplumu ve çevreyi biyolojik tehlike açısından korumak ve oluşan riski minimize etmek amacıyla alınması gerekli önlemlerden kısaca bahsedilecektir. Bu konuların başında kan kültürü alımı, taşınması ve laboratuvara kabulü sırasında uygulanacak biyogüvenlik kuralları, kişisel koruyucu ekipman kullanımı, güvenlik ekipmanlarının kullanımı, el yıkama, biyogüvenlik eğitimleri, ve son olarakda laboratuvarında meydana gelebilecek kazalarda yapılması gerekenleri kapsamaktadır.

Laboratuvar enfeksiyonları çeşitli çalışmalarda her yıl 1000 laboratuvar personelinden 1-3,5 oranında geliştiğini ve ortalama her 1000 çalışandan 1-5'inin laboratuvar enfeksiyonu açısından risk altında olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalarda biri Pike ve ark.ları tarafından 1976 yılında yapılmış ve 159 farklı ajan ile oluşmuş 4079 laboratuvar kaynaklı enfeksiyonu incelemiştir. Vakaların %50'sini bruselloz, Q ateşi, hepatitler, tifo, tularemi, tüberküloz, dermatomikozlar, Venezuela at ensefaliti, psittakoz ve koksidiomikozlardan kaynaklandığını tespit etmiştir.

Özellikle kan örneği alımı sırasında meydana gelen delici ve kesici aletlere bağlı yaralanmalar sonrasında en sık Hepatit B, hepatit C ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) ile bulaş görülmektedir. Böyle bir yaralanmadan sonra ortalama enfeksiyon riski, hepatit B için %18, hepatit C için %1.8 ve HIV içinse %0.3'tür. Sıklık açısından bakılacak olursa hepatit B enfeksiyonu 1000 laboratuvar çalışanından 3,5-4,6'sında tespit edilmiştir. Hepatit C için ortalama 500.000 laboratuvar çalışanın olduğu Amerika Birleşik Devletlerinde 2005-2006 yılları arasında 806 vaka tespit edilmiştir. HIV ile enfekte delici ve kesici yaralanma sonrası %0,3, mukoza teması yolu ile bulaş ise %0,09 olarak tespit edilmiştir. Bir çalışmada 1981-1992 yılları arasında 32 sağlık çalışanına HIV bulaştığı bildirilmiş olup bunların %25'i ise laboratuvar personeli olduğu tespit edilmiştir. Buradan da anlaşıldığı üzere kan alımı sırasında bulaş daha çok hepatit ve retrovirüsler ile görülürken, hasta örnekleri ve kültür çalışmalarının yapıldığı laboratuvarında diğer enfeksiyon etkenleri ile bulaş daha sık görülmektedir.

11.1. Kan kültür örneğinin alınması sırasında uygulanacak biyogüvenlik kuralları

Örnek alımı sırasında personel eldiven, önlük gibi kişisel koruyucu ekipmanlarını giymelidir. Ayrıca kan alımı sırasında iğnenin herhangi bir yaralanmaya sebebiyet vermemesi için çok dikkatli hareket edilmesi gerekmektedir. Alım tamamlandıktan sonra muhafaza kapağı takılmamalı bunun yerine mühendislik teknolojisine sahip güvenli kapaklı iğneler tercih edilmelidir. Alım tamamlandıktan sonra iğneler delici ve kesici atık kutusuna atılmalıdır. Ayrıca hasta ile temas sırasında veya laboratuvarında dökülme, sıçrama nedeniyle bulaşabilecek *N. meningitidis* veya Hepatit B virüsü gibi hastalıklardan korunma için hastane politikalarına uygun sağlık çalışanlarının immünizasyonu yapılmalıdır.

11.2. Kan kültür örneklerinin taşınması sırasında uygulanacak biyogüvenlik kuralları

Kan kültürü şişeleri mutlaka sızdırmaz, plastik, darbelere karşı emici özelliği olan kaplarda taşınmalıdır. Elde şişelerin taşınması tehlikelidir ve buna laboratuvar içi çok kısa mesafelerde bile müsaade edilmemelidir. Şişe etrafına istek kağıdı sarılmamalıdır. Eğer bu taşıma pnömatik sistem ile yapılacaksa şişelerin taşınacağı kapsül yükleme ve boşaltma sırasında dikkatli bir şekilde kontaminasyon ve sağlamlık açısından kontrol edilmelidir. Gözle görülür her kontaminasyondan sonra ve düzenli aralıklarla kapsüller dekontamine edilmelidir.

11.3. Kan kültür örneklerinin laboratuvara kabulü sırasında uygulanacak biyogüvenlik kuralları

Kan kültür şişelerinin laboratuvara kabulü sırasında, şişeler üzerinde sızıntı ya da kan lekesi açısından kontrol edilmelidir. Şişelerin deri ile temasından kaçınmak için mutlaka eldiven ve önlük giyilmelidir. Şişe sağlam ama dışı kan ile bulaşık ise bir dezenfektan solüsyon kullanılarak şişe silinmelidir. Bu amaç için % 10'luk çamaşır suyu en iyisidir. Daha sonra kanı alan personel derhal muhtemel bir bulaş olabileceği yönünde uyarılmalıdır. Ayrıca hem hastane bilgi sistemine hem de istek kağıdına örnek kabul ünitesi personeli tarafından not edilmelidir. Bazı nadir durumlarda şişede çatlak olabilir. Böyle zamanlarda sızdırma yok ise personel tarafından çok dikkatli bir şekilde çalışmaya devam edilebilir.

11.4. Kişisel koruyucu ekipman kullanımı

Her sağlık kurumu, çalışanları için çalışma alanlarına göre uygun kişisel koruyucu ekipmanları belirten düzenlemeleri hazırlamaktan ve uygun malzemelerin tedarik etmekten sorumlu olmalıdır. Bu kan kültürü gibi yüksek oranda mikroorganizma içeren örneklerle çalışıldığında ayrı bir öneme sahiptir.

Eldiven hastadan kan alma, kan alınmış örneklerin (şişelerin) taşınması, örneklerin laboratuvarında incelenmesi, değerlendirilmesi ve test çalışmaları gibi enfeksiyöz olduğu düşünülen tüm durumlarda giyilmelidir. Hastalardan kan alımı sırasında örneği kontamine etmemek adına steril eldiven kullanılmalı ve her hasta değişiminde değiştirilmelidir. Örneklerin taşınması ve laboratuvarında ise genel olarak steril olmayan tek kullanımlık eldivenler tercih edilebilir. Eldiven ile çalışılırken, dokunma hassasiyeti kaybolabileceğinden eldivenler sık sık kontrol edilmeli ve herhangi bir kirlenme, delinme ve yırtılmada eldivenler değiştirilmelidir ve eller yıkanmalıdır. Eldiven üzerine el dezenfektanı uygulanmamalı veya eldivenli eller yıkanmamalıdır.

Yüz ve göz koruması laboratuvarında yapılacak işe göre kullanılacak ekipmanlardır. Yüze ve gözlere sıçrama ve temastan korunmak için kullanılır. Bu maksatla güvenlik gözlükleri, maske, gözlükler ve yüz kalkanları (vizörler) kullanılmaktadır.

Kan kültürü ile ilgili tüm laboratuvar işlemlerinde sıvı geçirmez, uzun kollu, önu kapalı dize kadar uzanan uzunlukta önlükler giyilmelidir. Bu kıyafetler herhangi bir kontaminasyon durumunda derhal çıkarılmalıdır. Ayrıca laboratuvar dışına çıkılırken veya laboratuvar içindeki temiz alanlara gidilecekse yine laboratuvar kıyafetleri çıkarılmalıdır. Çıkarılan kıyafetler kurumun belirlediği politikalara göre ya tek kullanımlık olup biyolojik atık olarak değerlendirilir ve imha edilmek üzere atılır ya da kumaş önlük olup kurum çamaşırhanelerinde dekontamine edilerek yıkanır.

11.5. El yıkama

El yıkama laboratuvar kaynaklı enfeksiyonların bulaşmasını engellemek için kritik bir öneme sahiptir. Özellikle kan veya enfeksiyöz olduğu düşünülen herhangi bir materyal ile deri teması gerçekleşmişse mutlaka eller yıkanmalıdır. Ayrıca eller eldiven çıkarıldıktan sonra, çalışma bitiminde, laboratuvardan çıkılırken ve laboratuvar içinde kirli alandan temiz alana geçerken mutlaka yıkanmalıdır. Eldiven kullanımı hiçbir zaman el hijyeni yerine geçmez.

11.6. Güvenlik ekipmanları

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında kan kültürü ile çalışılırken çalışan personeli, örneği ve ortamı korumak için bazı ekipmanlar tasarlanmıştır. Bunların başında insineratör, tek kullanımlık öze ve biyolojik güvenlik kabinleridir. Bunlar içinde biyolojik güvenlik kabinleri (BGK) ayrı bir öneme sahiptir. Pozitif çıkan tüm kan kültür şişeleri ile yapılacak çalışmalar sıçrama, dökülme ve aerosol oluşumuna neden olabileceğinden, biyolojik güvenlik kabininde yapılmalıdır. Bu amaçla BGK Sınıf IIA veya Sınıf IIB kullanılmalıdır. BGK'leri teknik bir cihaz olduğundan mutlaka üretici firma önerilerine göre çalıştırılmalı ve tüm kullanıcılara eğitim verilmelidir. Tamamıyla usulüne uygun kullanılsa da düzenli aralıklarla saha testleri (sertifikasyon) yapılmalıdır.

11.7. Laboratuvar ekipmanlarının kullanımı

Bütün laboratuvar cihaz ve ekipmanları üretici firma önerilerine göre işletilmelidir. Özellikle kan kültüründen elde edilen izolatlar gibi yüksek konsantrasyonlarda veya yüksek miktarlarda enfeksiyöz materyal ile çalışılması durumunda dikkat edilmelidir. Ekipmanlar kullanım sırasında kan veya enfeksiyöz bir materyal ile kontamine olabileceğinden cihaz çalıştırılmadan önce işi bittikten sonra gözle kontrol edilmelidir. Ayrıca herhangi bir nedenle cihaz kullanılmayacaksa, onarılacaksa veya bakımı yapılacaksa bu işlemler yapılmadan önce dekontamine edilmelidir. Laboratuvarda en çok sıçrama veya dökülmeye neden olabilecek ekipmanlar, santrifüj, sonikatör, karıştırıcı ve çalkalayıcılar, homojenizatör ve öğütücülerdir. Bunların kullanımı mümkünse biyogüvenlik kabini içinde yapılmalıdır.

11.8. Standart önlemler

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında kan kültürü ile çalışılırken herhangi bir kazanın meydana gelmesini önlemek, enfeksiyöz materyal ile temas riskini azaltmak ve aerosol oluşumunu önlemek için iyi laboratuvar uygulamaları ve bazı önlemler alınmalıdır. Standart önlemler adı verilen bu temel prensipler ve uygulamalar tüm çalışanlara öğretilmeli ve bu eğitimler periyodik olarak tekrarlanmalıdır.

1. Delici ve kesici alet kullanımı: İğne ya da benzeri kesici aletlerle çalışırken dikkatli hareket etmek en önemli kuraldır ve laboratuvarda delici ve kesici alet kullanımı en aza indirilmelidir. Ayrıca kan kültürü için örnek alımı veya pozitif kan kültür şişelerinden örneğin çekilmesi sırasında iğne ile yaralanmaları önlemek için güvenli iğneler tercih edilmelidir. Subkültür veya şişeden örneğin alımı sırasında sıçramaları önlemek için bu gibi işlemler BGK içinde yapılmalıdır. İş biten iğneler bükülmemeli, kesilmemeli, kırılmamalı, yeniden muhafaza kabına yerleştirilmeye çalışılmamalı ve enjektör ile kan alınıyorsa iğneyi enjektörden elle ayırmaya çalışılmamalıdır. Tek kullanımlık iğneler, delici ve kesici alet atıkları için kullanılan delinmez kaplara dikkatli şekilde yerleştirilmeli ve sonrasında bu kaplar atılmalıdır. Bu delici ve kesici atık kapları asla tam doldurulmamalı 3/4'ü dolan kaplar yakılmak üzere geçici atık toplama noktasına götürülmelidir. Cam malzeme yerine mümkün olduğunca plastik malzemeler tercih edilmelidir.
2. Çalışılan alanlarda yemek yenilmesine, sigara içilmesine, kozmetik malzemelerin kullanılmasına ve gıda bulundurulmasına izin verilmemelidir. Lens kullanan kişilere laboratuvarda çalışırken gözlük veya yüz koruyucular kullanması önerilmelidir; ayrıca tırnak yeme, ellerin ağza, göze ve yüze götürülmemesine önem verilmelidir.
3. Ağızla pipetleme yapılmamalıdır.
4. Çalışma sırasında laboratuvar girişleri sınırlandırılmalıdır.
5. Laboratuvarda çalışan personel aşılama ile önlenemez hastalıklara karşı aşılmalıdır.
6. İş biten kan kültürü şişeleri ister pozitif olanları olsun isterse negatif sinyal verenler olsun tıbbi atık olarak değerlendirilmeli ve plastik atık torbaları yerine sert yapılı veya delinmeye karşı dayanıklı tek kullanımlık kaplara atılmalıdır. Tüm kontamine materyaller laboratuvar dışına çıkarılmadan önce otoklav ile dekontamine edilmelidir.

11.9. Biyogüvenlik eğitimi

Kan kültürü ile ilgili tüm işlemlerde uygulanması gereken biyogüvenlik kuralları, etkili bir eğitim programı ile personele verilmelidir. Bu programın hazırlığında ilk olarak ihtiyaçlar belirlenir. Buna göre bir başlangıç eğitimi verilir. Zaman içerisinde eğitim sonuçları değerlendirilerek tazeleme eğitimleri ile eğitimin davranışa dönüşmesi için çaba sarf edilmelidir.

11.10. Laboratuvar kazalarının yönetimi

Kan kültürü ile yapılan tüm işlemler sırasında laboratuvar kazaları meydana gelebilir. Bu nedenle laboratuvarda yapılacak tüm işlemler hazırlanmış olan standart işletim prosedürlerine göre yürütülmelidir. Ancak bunlara uyulmasına rağmen gelişebilecek kazalarda laboratuvar çalışanları ne yapılması gerektiğini mutlaka bilmelidir. Bu tür kazaların sonrasında kullanılmak üzere kaza yönetimi, raporlama ve bildirim, maruziyet ile ilişkili risklerin belirlenmesi ve maruziyet sonrası profilaktik yaklaşımları içeren protokoller hazır olmalı ve bunlar kaza olmadan önce tüm personele anlatılmalı ve eğitilmelidir.

Kan kültürü ile ilgili çalışmalar sırasında küçük çaplı dökülme veya sıçramalar meydana geldiğinde kişisel güvenlik ekipmanları kullanarak kontamine materyalin dökülmüş olduğu alan dezenfektan emdirilmiş kağıt havluyla silinmelidir. Daha sonra alan dezenfektanlı su ile yıkama yapılabilir. Tüm kullanılan malzemeler (kullanılan eldiven dahil) biyolojik atık kabına atılmalıdır. Sonrasında eller su ve sabunla mutlaka yıkanmalıdır. Ancak dökülme büyük miktarlarda olursa daha kapsamlı tedbirler alınmalıdır. İlk olarak dökülmenin olduğu yerdeki personel diğer laboratuvar çalışanlarını uyararak oda ve alanın boşaltılmasını sağlamalıdır. Etkilenen bölümün kapısı oluşan damlacıkların çökmesi için en az 30 dakika kapatılmalıdır. Daha sonra dökülme alanına kişisel koruyucu ekipmanlar giyinerek (eldiven, maske, önlük v.b.) girilmeli, dökülmenin olduğu alan kağıt havlu gibi emici bir madde ile kaplanmalıdır. Daha sonra dezenfektan solüsyonu kontamine alana çevreden merkeze doğru dökülmelidir. Dezenfektanın 20 dakika yüzeye temasından sonra temizlik yapılmalıdır. Alandaki kırık cam veya diğer malzemeler uzaklaştırılmalıdır. Bu işlem sırasında otoklavlanabilir süpürge, maşa veya pens gibi aletler kullanılmalıdır, eller eldivenli olsa da hiçbir malzeme elle alınmamalıdır. Dökülme çok büyük miktarlarda ise personel su geçirmez olan ayakkabılar giymelidir. Toplanan malzemeler biyolojik atık kabına atılmalıdır.

12.KALİTE GÜVENCE

Kan kültürü uygulamalarında kalite güvencesi yalnızca çalışma esnasındaki kalite kontrol uygulamalarını değil, aynı zamanda çalışma öncesindeki ve sonrasında sonuçların rapor edilme süreçlerini de kapsayan tüm süreçlerin gözden geçirilmesi ve izlenmesi sonucunda sağlanabilmektedir. Kalite güvencesini sağlamada kullanılan bazı göstergeler aşağıdaki Tablo 5’de sunulmaktadır.

12.1. Çalışma öncesi işlemler

Kan kültürü incelemesi öncesindeki süreçte yapılan işlemler şu şekilde sıralanabilir: Hasta değerlendirmesi, kan kültürü istemi ve girişi, kan örneğinin alınması, laboratuvara taşınması ve gelen örneğin kaydı. Bu bileşenlerin her biri başarılı bir sonuç için önem taşımaktadır.

12.1.1. Hasta değerlendirmesi

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

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

Tablo 5: Kan kültüründe kullanılan çeşitli kalite güvence göstergeleri	
Takip edilen göstergeler	Takip süresi
Kan kültürü kontaminasyon oranı	Aylık ve gereken durumlarda
Önerilen kan miktarının altında veya üstünde inoküle edilmiş kan kültürü şişelerinin oranı	Yıllık
Tek kan kültürü oranı	Başlangıçta aylık, sorun yoksa daha uzun aralıklarla
Çok sayıda kan kültürü	Sürekli
Kan kültürü pozitiflik yüzdesi	Aylık (hasta tipi ve servise göre ayrıntılı)
1000 hasta günü başına düşen kan kültür istem oranı	Yıllık
Direkt bakı ve kültür sonuçları arasındaki uyum	Yıllık (her teknisyen için)
Kritik sonuç bildirme süresi (sonuç çıktıktan kliniğe bildirilinceye kadar geçen süre)	Yıllık veya daha sık olabilir
Direk antibiyogram sonucunun identifikasyon sonrası uygulanan antibiyogramla karşılaştırılması	Sürekli
Sonuç raporları, faturaların kontrolü	Üç ayda bir

12.1.2. Kan kültürü istemi

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

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

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

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

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

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

12.1.3 Örnek alımı

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

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

Tüm kan kültürü örnekleri için aşağıdaki bilgiler sağlanmak zorundadır (*Bakınız* bölüm 4.4):

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

Mümkün oldukça antimikrobiyal ajanlar kullanılmadan önce kan alınmalıdır.

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

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

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

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

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

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

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

12.1.4. Örnek taşınması

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

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

12.1.5 Örneklerin kayıt altına alınması ve İşlenmesi

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

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

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

- Yetersiz hacimde örnek alınmış şişeler/tüpler
- Yetersiz sayıda kan kültür şişesi/tüpü
- Tek kan kültürü
- Sadece anaerobik veya aerobik şişeye inoküle edilmiş kan örnekleri

Önerilenden fazla kan kültürü gönderildiğinde örnekler işlenmeli, fakat laboratuvar bunun anemi riskini artıracak ve büyük ihtimalle kontaminantların da üreyeceğini bildirmelidir.

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

12.2. Çalışma aşamasındaki işlemler

Kan kültürünün inceleme aşaması aşağıdaki bileşenleri içermektedir:

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

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

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

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

Kan kültürü inceleme sonuçlarına gereğinde açıklama da eklenerek rapor edilebilir. Test rehberleri kan kültürü inceleme basamakları yanı sıra potansiyel yalancı negatif veya yalancı pozitiflik nedenleri ve bunlardan kaçınmak için yapılması gerekenleri de içermelidir.

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

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

12.3. Çalışma sonrası işlemler

Kan kültürü incelemesinde çalışma sonrası işlemler aşağıdaki bileşenleri içerir:

- Sonuçların raporlanması ve arşivlenmesi
- Örnek yönetimi

Bu bileşenlerin her biri için ayrıntılı prosedür veya yönergeler hazırlanır.

12.3.1. Sonuçların raporlanması

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

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

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

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

12.3.2. Sonuçların saklanması

Kan kültürü sonuç raporları yasal otoritenin ön gördüğü şekilde ve akreditasyon standartlarına uygun olarak saklanmak zorundadır. Kayıtların depolanması hakkındaki protokoller ayrıntılı olarak yazılmalı, depolanacak kayıtları, saklama yerini, yöntemini ve depolama süresini tanımlamalıdır. CLSI GP26 dokümanı "Application of a Quality Management System

Model for Laboratory Services" Appendix D, çeşitli laboratuvar kayıtlarını saklamaya yönelik yapılacaklarla ilgili bir rehber içermektedir.

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

12.3.3. Konsültasyon

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

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

KAYNAKLAR

1. Akalın H.: Sepsis tanımlar, tanı, Etiyoloji ve Epidemiyolojide Yeni Gelişmeler. 3.Ulusal Yoğun Bakım İnfeksiyonları Simpozyumu, 18 Mayıs-20 Mayıs 2007 – Nevşehir
2. Al-Juaid A., Walkty A., Embil J., Crockett M., Karlowsky J.: Differential time to positivity: vascular catheter drawn cultures for the determination of catheter-related bloodstream infection. *Scand J Infect Dis.* 2012 Oct;44(10):721-5
3. Ataman Hatipoğlu C., Ipekkın K., Oral B., Onde U., Bulut C., Demiröz AP.: Assessment of diagnostic methods for the catheter-related bloodstream infections in intensive care units. *Mikrobiyol Bul.* 2011 Jan;45(1):75-85.
4. Barenfanger J., Drake C., Kacich G.; Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. *J Clin Microbiol* 1999; 37(5):1415–1418
5. Baron EJ., Miller MJ., Weinstein MP., Richter SS., Gilligan PH et al.: A Guide to utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Disease: 2013 Recommendations by the Infectious Disease Society Of America (IDSA) and The American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis* 2013, 57:e22-121
6. Baron EJ., Thomson RB.: Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology: J Versalovic, KC Carroll, JH Jorgensen, G Funke, ML Landry, DW Warnock (eds):*Manual of Clinical Microbiology "* 10. Baskı kitabında s. 228-271, ASM Press, Washington D.C, 2011.
7. Baron EJ., Weinstein MP., Dunne WM. Jr, Yagupsky P., Welch DF., Wilson DM.: Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed., Baron EJ. 2005 ASM Press, Washington, D.C.
8. Beekmann SE., Diekema DJ., Chapin KC., Doern GV.: Effects of rapid detection of blood stream infections on length of hospitalization and hospital charges. *J Clin Microbiol* 2003; 41(7):3119–3125
9. Beekmann SE., Henderson DK.: Infections caused by percutaneous intravascular devices. In: Mandell GL., Bennett JE., Dolin R., (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases.* 6th ed. Elsevier, Churchill-Livingstone Inc., Philadelphia, 2010: 3497-715.
10. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Revised December 2009.
11. Bouza E., Alvarado N., Alcalá L., Pérez MJ., Rincón C., Muñoz P.: A randomized and prospective study of 3 procedures for the diagnosis of catheter-related bloodstream infection without catheter withdrawal. *Clin Infect Dis.* 2007 Mar 15;44(6):820-6.
12. Bouza E., Burillo A., Muñoz P.: Catheter-related infections: diagnosis and intravascular treatment. *Clin Microbiol Infect.* 2002 May;8(5):265-74.
13. Bradley SF., Kaufman CA.: Infections associated with vascular catheters. In: Rippe JM., Irwin RS., Fink MP., Cera FB(eds):. *Intensive Care Medicine.* 3rd ed, Little, Brown and Company, Boston, 1996:1141-1152.
14. Bryan CS.: Clinical implications of positive blood cultures. *J Clin Microbiol* 1989; 2:329–353.
15. Chen JHK., Ho Pl., Kwan GSW. et al.: Direct Bacterial Identification in Positive Blood Cultures using two commercial MALDI-TOF mass spectrometry systems *J Clin Microbiol* 2013 (on line ahead of print)
16. Chen WT, Liu TM, Wu SH, Tan TD, Tseng HC, Shih CC. Improving diagnosis of central venous catheter-related bloodstream infection by using differential time to positivity as a hospital-wide approach at a cancer hospital. *J Infect.* 2009 Nov;59(5):317-23.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline.* Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007. CLSI document M47-A

18. CLSI. Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
19. Cockerill FR., Wilson JW., Vetter EA. et al.: Optimal testing parameters for blood cultures Clin Infect Dis 2004; 38: 1724-1730
20. Coyle MB., McGonagle LA., Plorde JJ., Clausen CR., Schoeneck FD.: Rapid antimicrobial susceptibility testing of isolates from blood cultures by direct inoculation and early reading of disk diffusion tests. J Clin Microbiol 1984; 20:471-477
21. Crump JA., Tanner DC., Mirredt S., et al.: Controlled comparison of BACTEC 13A, MYCO/F LYTIC, BacT/ALERT MB, and ISOLATOR 10 systems for detection of mycobacteremia. J Clin Microbiol 2003; 41: 1987–1990.
22. Cunha BA.: Intravenous line infections. Critical Care Clinics 1998; 14:339-346.
23. Doern GV., Gantz NM.: Detection of bacteremia in patients receiving antimicrobial therapy: an evaluation of the antimicrobial removal device and 16B medium. J Clin Microbiol 1983; 18(1):43-48.
24. Dunne WM., Nolte FS., Wilson ML., Hindler JA.: Coordinating ed. Cumitech 1B, Blood Cultures III. Washington DC: ASM Press, 1997
25. Flaws ML.: Bacteremia and Sepsis," CR. Mahon, DC. Lehman, G. Manuselis(eds): Texbook of Diagnostic Microbiology" 4. Baskı kitabında, s.867-882, Saunders-Elsevier, Printed China, 2011.
26. Garcia L S, Isenberg HD: Clinical Microbiology Procedures Handbook, Vol I, 3. Baskı, 3.4.1-3.4.1.20, ASM Press, 2010.
27. Güney M.: Enfeksiyöz Ajanlar ile Çalışırken Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar, Alınması Gereken Tedbirler. Ed: Başustaoğlu A, Güney M. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Biyogüvenlik, 1. Baskı, Ankara: Klimud Yayınları No: 2, 2012; 222-243.
28. Heckly RJ.: Preservation of microorganisms. Adv Appl Microbiol 1978; 24: 1-53
29. Hoen B., Duval X.: Infective endocarditis. N Engl J Med 2013; 368:1425-33.
30. http://www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/4PSC_CLABScurrent.pdf . Erişim tarihi: 14 Haziran 2013
31. http://hastaneenfeksiyonlari.saglik.gov.tr/dosya/analiz_2010.pdf. Erişim tarihi: 01 Mayıs 2013
32. http://www.cdc.gov/nhsn/PDFs/dataStat/NHSN-Report_2010-Data-Summary.pdf. Erişim tarihi: 15 Mayıs 2013
33. Kellogg JA., Manzella JP., Bankert DA.: Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. J Clin Microbiol 2000, 38:2181-2185.
34. Kim TJ., Weinstein MP.: Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. Clin Microbiol Infect 2013;19: 513-20.
35. Lamy B., Seifert H.: "Septicemia," G. Cornaglia, R. Courcol, JL. Hermann, G. Kahlmeter, HP. Lafeuille, J. Vila (eds): European Manual of Clinical Microbiology" kitabında s.101-110, ESCMID-SFM, (European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases- Basel, Société Française de Microbiologie) 2012.
36. Madani TA.: Clinical infections and bloodstream isolates associated with fever in patients undergoing chemotherapy for acute myeloid leukemia. Infection 2000; 28(6):367–373
37. Maki DG., Weise CE., Sarafin HW.: A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection.N. Eng. J. Med. 1977 Jun 9;296(23):1305-9.

38. Mermel LA., Farr BM., Sherertz RJ., Raad II., O'Grady N., Harris JAS., Craven DE.: Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* 2001; 32 : 1249-1272.
39. Mirredt S., Weinstein MP., Reimer LG., Wilson ML., Reller LB.: Relevance of the number of positive bottles in determining clinical significance of coagulase-negative staphylococci in blood cultures. *J Clin Microbiol* 2001; 39(9): 3279-3281.
40. Munier G., Black D., Snyder J.: Evaluation of BacT/ALERT blood culture media for the detection and recovery of *Histoplasma capsulatum* from blood, abstr. C-101, p. 140. Abstr. 104th Gen. Meet. Am. Soc. Microbiol. 2004. American Society for Microbiology, Washington.
41. Munson EL., Diekema DJ., Beckmann SE., Chapin KC., Doern GV.: Detection and treatment of bloodstream infection: laboratory reporting and antimicrobial management. *J Clin Microbiol* 2003; 41:495-497.
42. Murray PR., Masur H.: Current approaches to the diagnosis of bacterial and fungal bloodstream infections in the intensive care unit. *Crit Care Med.* 2012; 40: 3277-82.
43. Mylotte J.M., Tayara A.: Blood Cultures: Clinical Aspects and Controversies, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2000) 19 :157–16.3
44. National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) system report, data summary from january 1992 through june 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004;32: 470-485.
45. National Committee for Clinical Laboratory Standards (CLSI). Clinical Laboratory Safety; Approved Guideline — NCCLS document GP17-A2 [ISBN 1-56238-530-5]- Second Edition. Pennsylvania USA, 2004.
46. Peacock SJ., Bowler IC., Crook DW.: Positive predictive value of blood cultures growing coagulase-negative Staphylococci. *Lancet* 1995; 346(8968): 191-192.
47. Pearson ML.: Guideline for prevention of intravascular device-related infections. Part I. Intravascular device-related infections: an overview. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Am J Infect Control* 1996; 24: 262-277.
48. Polderman KH., Girbes ARJ.: Central venous catheter use. Part 1. Mechanical complications. *Intensive Care Medicine* 2002; 28: 1-17.
49. Polderman KH., Girbes ARJ.: Central venous catheter use. Part 2: Infectious complications. *Intensive Care Medicine* 2002; 28:18-28.
50. Raad II., Bodey GP.: Infectious complications of indwelling vascular catheters. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 197-208.
51. Reiner LG., Carroll KC.: Procedures for the storage of microorganisms. In PR. Murray, EJ. Baron, JH. Jorgensen, MA. Pfaller, RH. Tenover, FC. Tenover (eds) *Manual of Clinical Microbiology*, 8th edition, ASM Press, Washington DC, pp 67-73
52. Richter SS., Beekmann SE., Croco DJ., Koontz FP., Pfaller MA., Doern GV.: Minimizing the workup of blood culture contaminants: implementation and evaluation of a laboratory-based algorithm. *J. Clin. Microbiol* 2002; 40(7):2437–2444
53. Roiz MP., Peralta FG., Valle R., Arjona R.: Microbiological diagnosis of brucellosis. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1819.
54. Safdar N., Fine JP., Maki DG.: Meta-analysis: methods for diagnosing intravascular device-related bloodstream infection. *Ann Intern Med.* 2005 Mar 15;142(6):451-66.
55. Seifert H., Wislinghoff H.: Bloodstream infection and endocarditis," SP. Borriello, PR. Murray, G. Funke (eds):Topley-Wilsons, Bacteriology Vol I, 10. Baskı Kitabında s.509- 554, Hodder Arnold, ASM Press, London (2005).

56. Siegman-Igra, Y., A. M. Anglim, D. E. Shapiro, K. M. Adal, B. A. Strain, and B. M. Farr. 1997. Diagnosis of vascular catheter-related bloodstream infection: a meta-analysis. *J. Clin. Microbiol.* 35:928-936.
57. Tokars JJ.: Predictive value of blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: implications for patient care and health care quality assurance. *Clin Infect Dis* 2004; 39(3):333-341
58. Towns M.L., Jarvis WR., Hsueh PR.: Guidelines on Blood Cultures, *J Microbiol Immunol Infect* 2010;43(4):347-349.
59. Vetter E., Torgerson C., Feuker A., et al.: Comparison of the BACTEC MYCO/F Lytic bottle to the Isolator tube, BACTEC Plus Aerobic F/bottle, and BACTEC Anaerobic Lytic/10 bottle and comparison of the BACTEC Plus Aerobic F/bottle to the Isolator tube for recovery of bacteria, mycobacteria, and fungi from blood. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 4380-4386.
60. 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 (9 suppl): S26-S29.
61. Weinstein MP., Mirredt S., Van Pelt L., et al.: Clinical importance of identifying coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures: Evaluation of microscan rapid and dried overnight gram-positive panels versus a conventional reference method. *J Clin Microbiol* 1998; 36(7): 2089-2092.
62. Weinstein MP., Murphy JR., Reller LB., Lichtenstein KA.: The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. II. Clinical observations, with special reference to factors influencing prognosis. *Rev Infect Dis* 1983; 5(1): 54-70.
63. Weinstein MP., Towns ML., Quartey SM., et al.: The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis* 1997; 24(4): 584-602.
64. Weinstein MP.: Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. *J Clin Microbiol.* 41(6):2275-2278.
65. Widmer AF. Intravenous-related infections. In: Wenzel RP(ed). *Prevention and Control of Nosocomial Infections*, Williams & Wilkins, Baltimore, 1997:771-805.
66. Wilson ML., Mitchell M., Morris AJ., Murray PR., Reimer LG., Reller LB., Towns M, Weinstein MP, Wellstood SA, Dunne WM, Jerris JRC, and Welch DL. (eds): *Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline*. Clinical and Laboratory Standards Institute, M47-A, Vol.27 Number 17, Wayne, Pennsylvania, 2007.
67. Winn WC., Allen S., Janda W., Koneman E., Procop G., Schreckenberger P., Woods G.: *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, Lippincotts Williams Wilkins, 6th edition, 2005.
68. Wisplinghoff H., Seifert H., Tallent SM., Bischoff T., Wenzel RP., Edmond MB.: Nosocomial bloodstream infections in pediatric patients in United States hospitals: epidemiology, clinical features and susceptibilities. *Pediatr Infect Dis* 2003; 22(8):686-691.
69. World Health Organization. *Handbook: Good Laboratory Practice (GLP)*, Handbook: Good laboratory practice (2nd edition), Quality practices for regulated non-clinical research and development. Switzerland Copyright 2009.
70. Yagupsky P., Peled N., Press J., et al.: Comparison of BACTEC 9240 Peds Plus medium and Isolator 1.5 microbial tube for detection of *Brucella melitensis* from blood cultures. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1382-1384.
71. York MK.: *Leptospira* culture, p. In H. D. Isenberg (ed. in chief), *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2nd ed. ASM Press, Washington, 2004: p:1-5.