

# KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNİN İŞLENMESİ VE İŞ AKIŞI

TANI YÖNTEMLERİ VE TANIDA YAŞANAN ZORLUKLAR

Prof. Dr. İpek Mumcuođlu

Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı

# Kan Kùltürü ve Önemi

- Kan kùltürü, tanıda altın standart
- Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarının en acil ve önemli işlerinden biri
- Morbidite ve mortaliteyi doğrudan etkilemekte

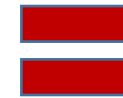


# Laboratuvar Süreçlerinde Hata Kaynakları

Preanalitik  
%32-75

Analitik  
%7-13

Postanalitik  
%18-19



**Farkındalık!**  
Ne yapmalıyım?  
Nasıl yapmalıyım?



# Temel Kavramlar

---

Set Kavramı

---

Set Sayısı

---

Alınacak Kan Miktarı

---

Alınma Zamanı

---

Santral Kateter/Periferik kan

---

Anaerop Şişe Kullanımı

---

Kontaminasyonun Engellenmesi

# Set Kavramı Nedir?

Tek bir damar girişimiyle alınan kanın, dağıtıldığı kùltür şişelerinin tümü bir set olarak kabul edilir



İdeal olarak, bir sette;  
1 aerobik ve 1 anaerobik şişe  
olmalıdır (çocuk hastalar  
hariç).



- Tek kan kültürü seti önerilmez
  - Yeterli değil (yenidoğan dönemi hariç)
  - Tek bir pozitif kültür sonucunun yorumlanması zordur
    - (etken-kontaminant?)

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

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



**Kan kültürü örneklerinin peş peşe alınması ile 24 saat içinde aralıklarla alınması arasında fark yoktur**

# Çocuk Hastalarda Set Sayısı



Çocuk hastalarda rutinde anaerobik şişe kullanılmasına gerek yoktur.

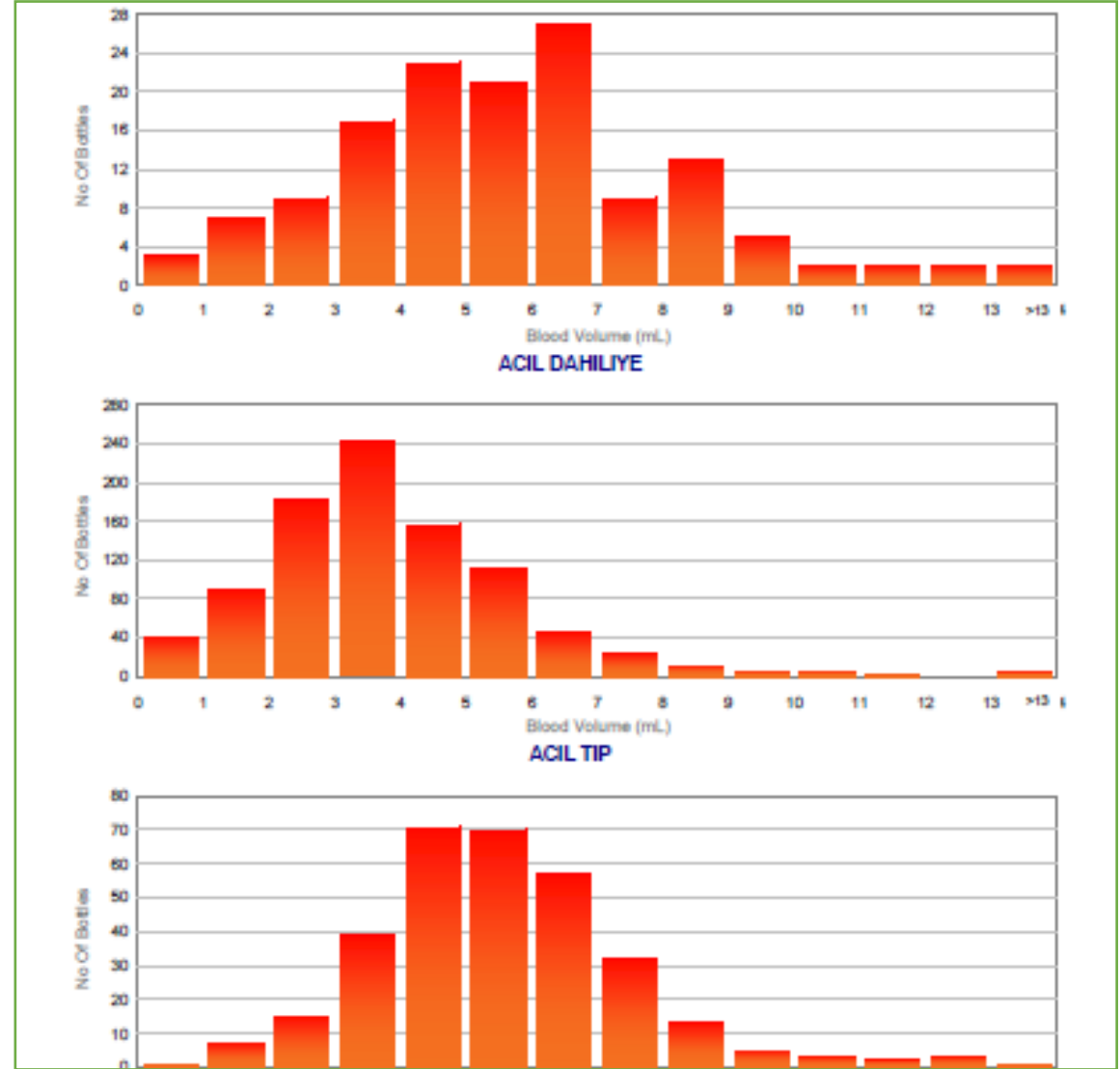
- Çocuklarda anaerobik bakteriyemi sıklığı azdır.
- Kan miktarı kısıtlıdır.

# Alınacak Kan Miktarı (Erişkin)

- Her şişe için **10-15 ml**
  - Bir set için 20-30 ml
- Her bir mililitrelik artış, izolasyon olasılığını %3 arttırmakta



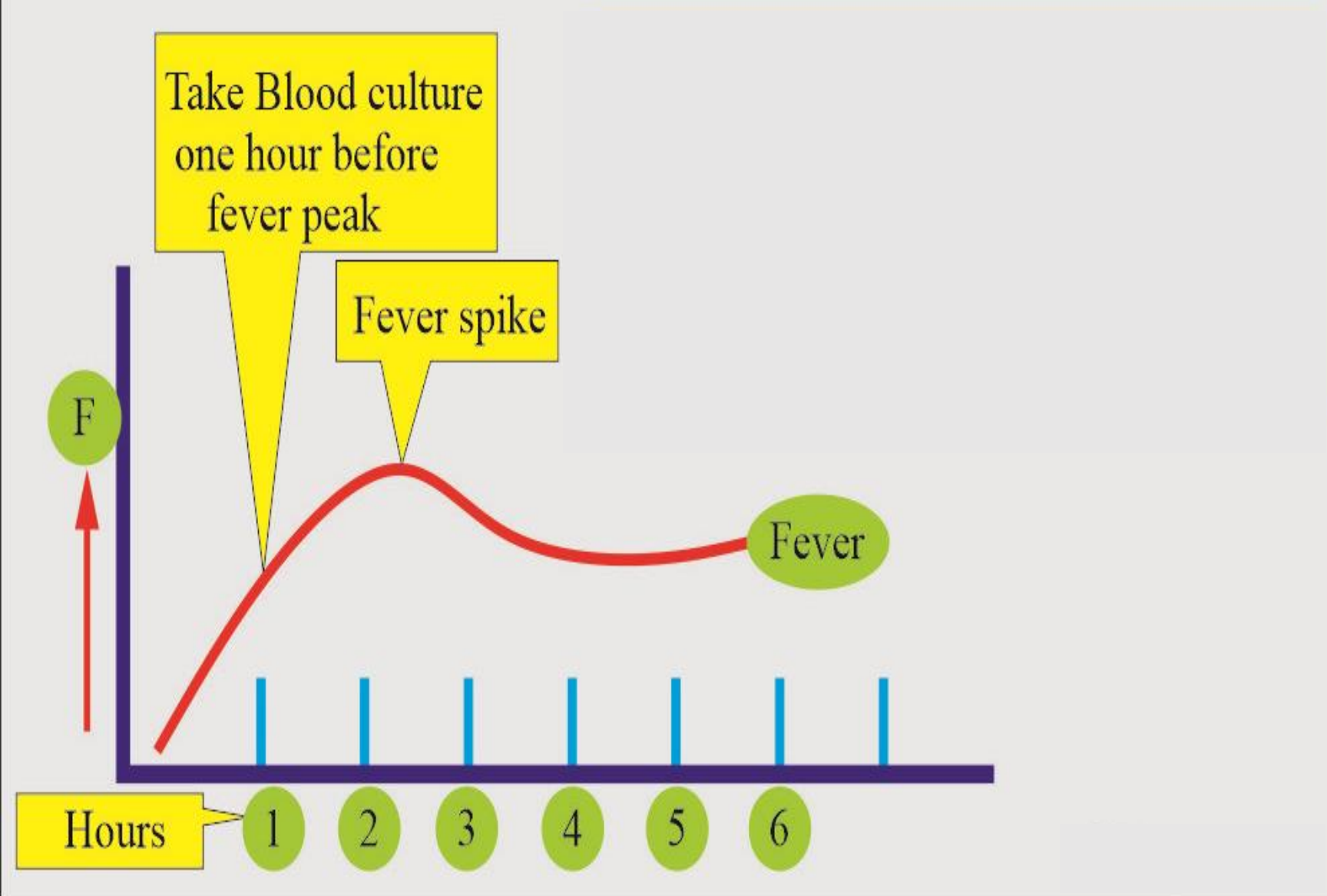
**Alınan kan hacmi,  
etken mikroorganizmanın  
saptanmasını etkileyen en  
önemli faktördür.**



# Kan Kültürü Alınma Zamanı



- Kanda mikroorganizma konsantrasyonunun en yüksek olduğu dönem, ateş çıkmasından önceki 30-60 dakikalık süre
- Ateş yükselmeye başladıktan sonra en kısa sürede alınmalı
- Antibiyotik tedavisine başlanmadan önce alınmalıdır



# Kan kültürü alma işlemi

- Kan kültürü alma işlemini kolaylaştırmak amacıyla bir işlem tepsi hazırlanması önerilir.
- Bu tepsi periyodik olarak yüzey dezenfektanı ile temizlenmelidir.



- Malzemeler
  - Turnike
  - Steril gazlı bez
  - Antiseptik solüsyon(lar)
  - Tek kullanımlık steril olmayan eldiven
  - Bir çift steril eldiven
  - 20 ml'lik iki adet enjektör veya vacutainer veya kelebek seti
  - Kan kültürü şişeleri (ihtiyaca göre; aerobik, anaerobik, mikotik, pediyatrik)
  - Kesici-delici tıbbi atık kutusu



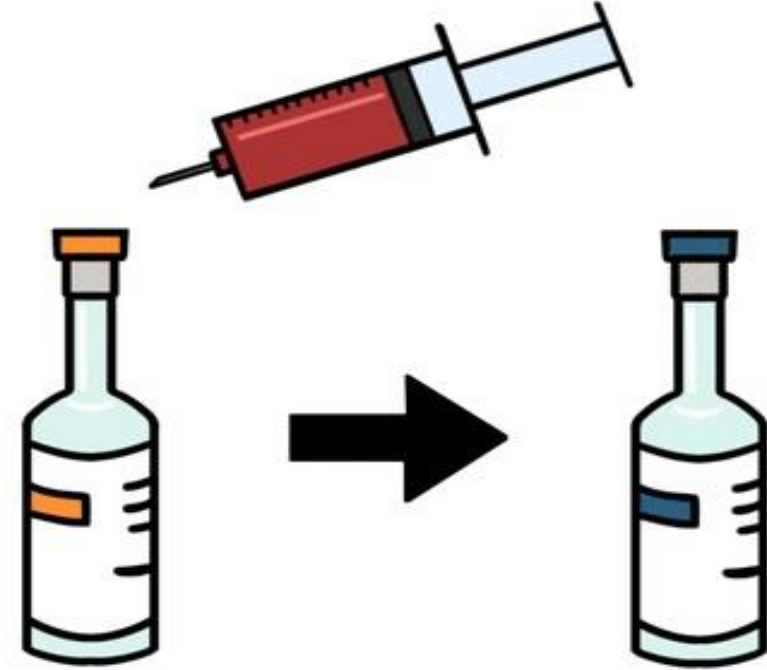
Kontrol Listesi	Onay
Kan kültürü istemi kontrol edildi	
Hastanın kimliği doğrulandı	
İşlem hakkında hasta veya yakını bilgilendirildi	
Kan kültürü şişeleri kontrol edildi	
Şişelerin üzeri yazıldı	
Hasta barkodları yapıştırıldı	
Şişelerin üzerinde alınması hedeflenen kan miktarı işaretlendi	
Tepsiye malzemeler kontrol edildi: Enjektör/vacutainer/kan alma seti, eldiven, kan kültürü tüpleri, antiseptikler	
El hijyeni sağlandı, eldiven giyildi	
Turnike bağlandı, kan alınacak damar belirlendi, turnike gevşetildi.	
Kan alınacak bölgeye cilt antisepsisi uygulandı	
Kan kültürü şişelerinin kapağı çıkarılarak tıpa lastiği dezenfekte edildi	
Tekrar el hijyeni sağlandı	
Turnike sıkıldı	
Steril eldiven giyildi	
Hastanın yaşına uygun hacimde kan alındı	
Turnike gevşetildi	
Enjektör/kan alma seti damardan çıkarıldı, emniyet mekanizması etkinleştirildi	
Kanama kontrol altına alındı	
Kan alma seti, kesici-delici atık kutusuna atıldı	
Kan şişelere uygun hacimde dağıtıldı	
Şişeler birkaç kere nazikçe çalkalandı	
İyotlu antiseptik kullanıldıysa: %70 alkolle silinerek antiseptik uzaklaştırıldı	12
Şişeler laboratuvara en geç iki saat içinde ulaştırıldı	

# Kanın Şişelere Dağıtılma Sırası

**Kelebek kan alma seti kullanılıyorsa**  
1. Aerobik, 2. Anaerobik



**Vacutainer veya enjektör kullanılıyorsa**  
1. Anaerobik, 2. Aerobik



# Kan yeterli miktarda alınmazsa...

- Öncelikle **Aerobik** şişe
  - Bakteriyemi etkenleri çoğunlukla aerobik bakteriler
- Anaerobik şişe
  - Anaerobik enfeksiyon olasılığı yüksekse tercih edilebilir
    - diyabetik hasta, karın içi ya da jinekolojik enfeksiyon riski, derin yara enfeksiyonu, nütropeni varlığı, vb.



## Kan kültürü Şişesine alınabilen diğer rnekler

- Beyin omurilik sıvısı
- Eklem sıvısı,
- Perikardiyal sıvı
- Plevral sıvı,
- Periton sıvısı



# Kan kültürü Şişesine alınabilen diŐer rnekler

## AVANTAJLAR

- Geleneksel plak ekimine kıyasla etken izolasyonunu arttırır
- Steril sıvılar için kan kültürü Şişelerinin kullanılması özellikle önerilir
- Antibiyotik baŐlayıcı özellikleri vardır

## DEZAVANTAJLAR

- **Kontaminasyona dikkat!**
- Laboratuvara bu ŐiŐelerle birlikte; Gram boyama, hücre sayımı ve diŐer ekimler için ayrıca steril tüpte örnek de mutlaka gönderilmelidir



# KONTAMİNASYON

Koagülaz negatif stafilokoklar  
CDC kriterlerine göre  
değerlendirildi.

%9'u etken

**%91'i kontaminant**



## Kontaminasyonun zararları:

- Gereksiz tedavi
- Antimikrobiyal direnç
- Gerçek etkenin üremesi inhibe olabilir
- Laboratuvar iş yükünün artması
- Maliyet artışı

## Kontaminasyon kaynakları

- Antiseptiklerin uygun kullanılmaması
- Antiseptik uygulama süresine uyulmaması
- Kan kültürü şişe kapaklarının temizliği
- İğnenin değiştirilmesi
- Kan örneğinin örnek tüplerine dağıtılma sırası



# Cilt antisepsisi

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

# Kan Örneklerinin Red Kriterleri

- Kan örnekleri reddedilmez
- Bazı uygunsuzluklar tespit edilirse bildirim yapılır

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

## Olumsuz durumu bildir...

- SKT geçmiş şişe
- Kan miktarı ↓
- Kan miktarı ↑
- Tek şişe
- >2 saatte gönderilmiř

Mecbur kalınmadıkça  
rnek reddi yapılmaz !



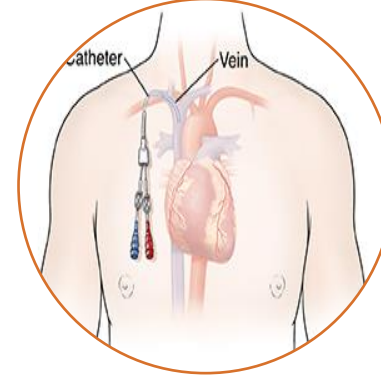
# Unutmayınız!



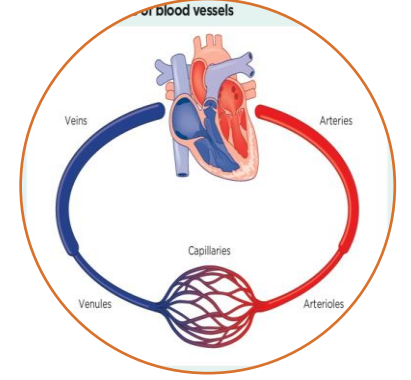
Sürveyans amaçlı kan kültürü alınmaz



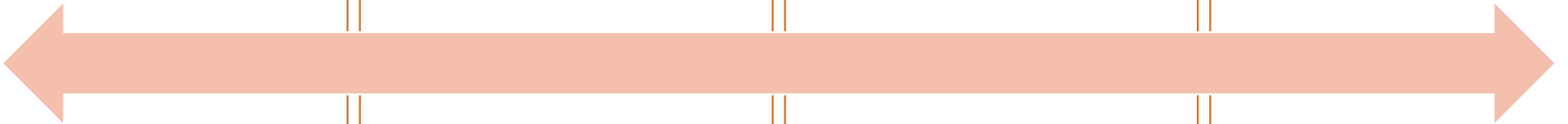
Kan kültürleri, antibiyotik verilmeden önce alınır



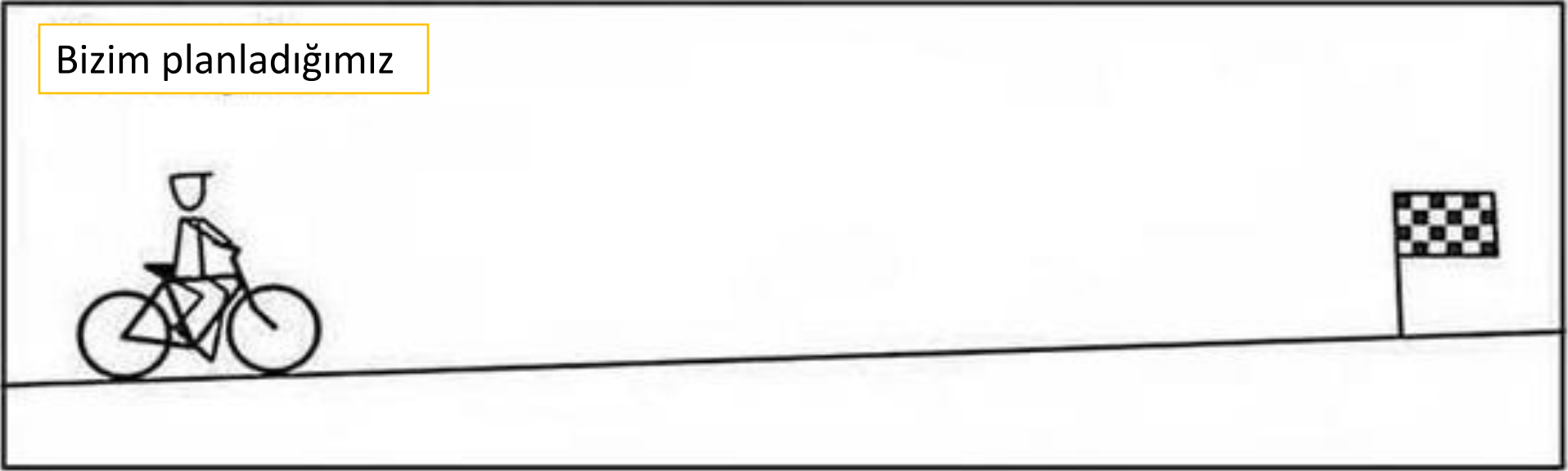
Kan kültürleri, kateterlerden alınmamalıdır (KİKDE şüphesi hariç).  
**KONTAMİNASYON YÜKSEK!**



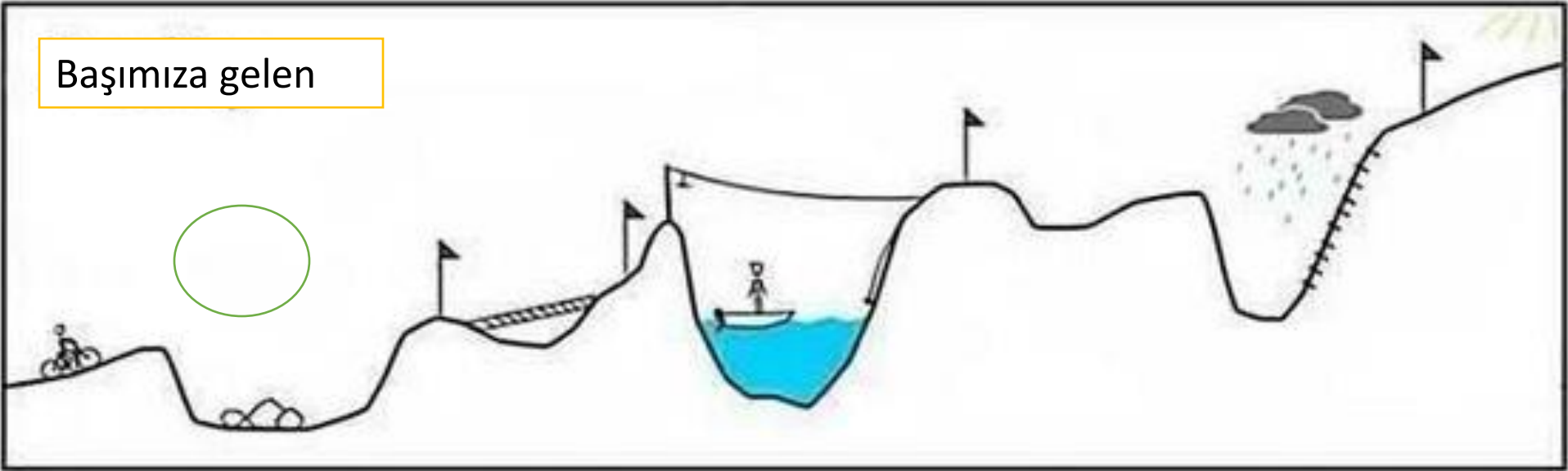
Özel bir gereklilik olmadığı sürece, kan alımı venöz damardan yapılır



Bizim planladığımız

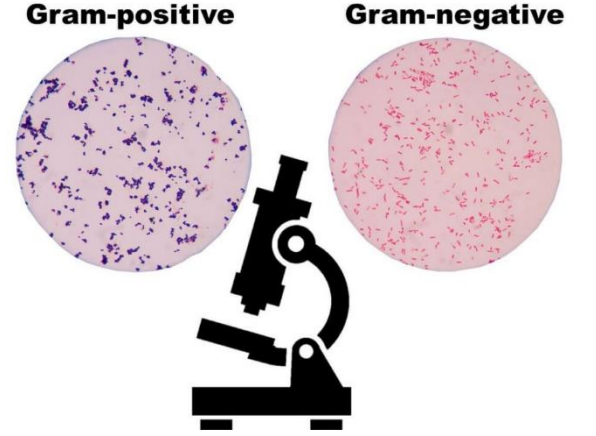


Başımıza gelen



# Analitik Süreç

- Otomatize kan kültürü sistemi ile takip (5 gün)
- Gram Boyama
- Pasajlar
- Kültürlerin Değerlendirilmesi



# Otomatize Kan Kültürü Sistemleri

- Büyük miktarda kan kültürünü işleyen laboratuvarlarda:
  - Kesintisiz takip
  - Hızlı tespit etme kapasitesi
  - Azalmış kontaminasyon
  - Antibiyotik baęlama



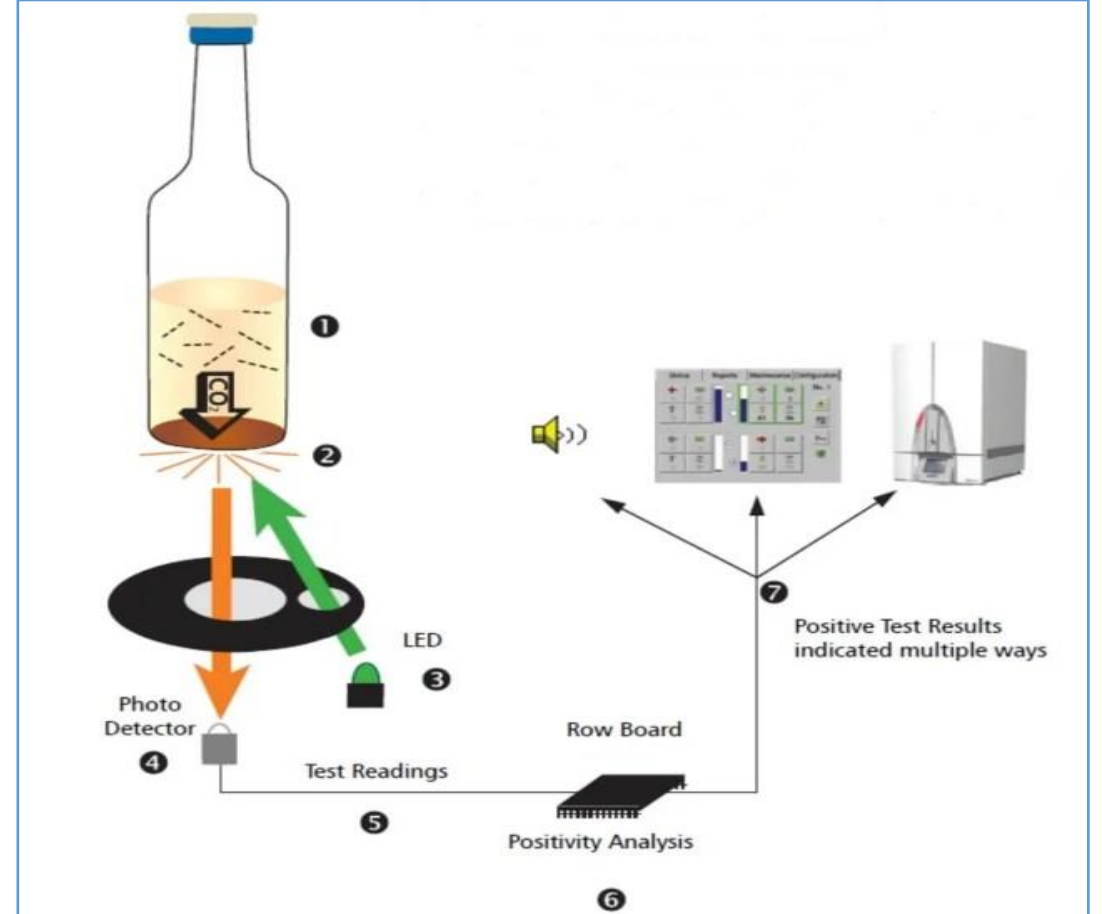
# Otomatize Kan Kültürü Sistemleri

- Tam otomatik kan kültürü sistemleri, organizmalar tarafından salınan CO<sub>2</sub>'i ler
  - Kolorimetrik metod
  - Florometrik metod



# FLOROMETRİK METOD (BD)

- Bakteri çoğalınca CO2↑
- CO2 artınca 7,3 pH a sahip olan besiyeri asitleşir  
( $CO_2 + H_2O = H_2CO_3$ )
- pH azalınca floresan madde tetiklenir ve floresan ışımaya meydana gelir
- Cihaz , bu ışımayı tespit eder



# Standart inkübasyon süresi **5 gündür**

- Beş günün sonunda şişelerden kör pasaj yapılmalı mı?
- **ÖNERİLMEZ**

## Özel Durumlar

- Klinik bulguları ya da öyküsü aşağıdaki organizmaları düşündüren hastalarda inkübasyon süresi sonunda kan kültürlerinden uygun besiyerlerine kör pasaj yapılabilir
  - *Neisseria spp, Brucella spp, Francisella spp, Legionella spp*
  - HACEK grubu
  - *P. aeruginosa* ve *Candida spp*

# Biyogüvenlik

---

Kan kültürü şişelerinden yapılacak her türlü işlem BGK içinde uygulanmalıdır (BGD2)

---

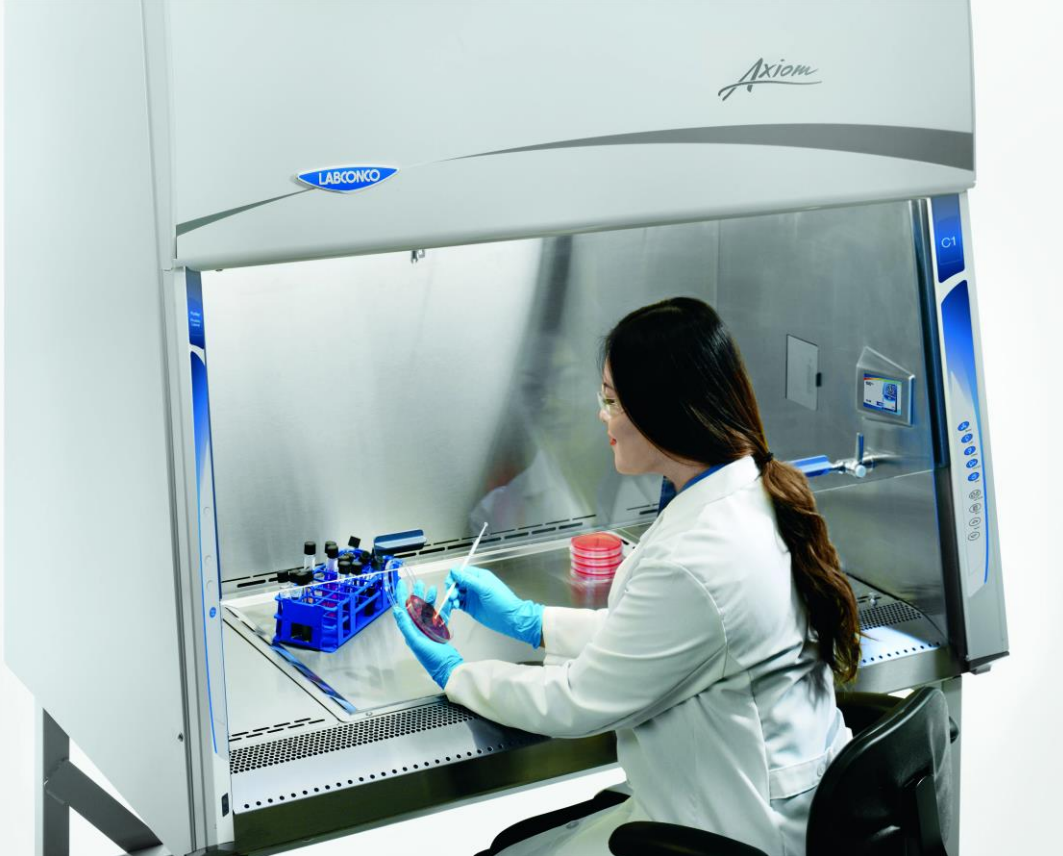
Koruyucu gözlük ve maske kullanılmalıdır.

---

Güvenlikli iğneler tercih edilmelidir

---

*Brucella spp.*, *Francisella spp.*, *Y. pestis*, *B. mallei* ve *B. pseudomallei*, *M. tuberculosis* mümkünse BGD3 laboratuvarında çalışılmalıdır.



# POZİTİF sinyal veren şişeler

- Şişe başlığı (%70 etanol/izopropil alkol) silinir ve kuruması beklenir.
1. Standart besiyerlerine ekim yapılır
  2. İki adet preparat hazırlanır
  3. Mevcutsa hızlı yöntemler kullanılır
    - MaldiTof
    - PCR



# POZİTİF sinyal veren şişeler



Katı besiyerine  
pasaj



↓  
4 drops

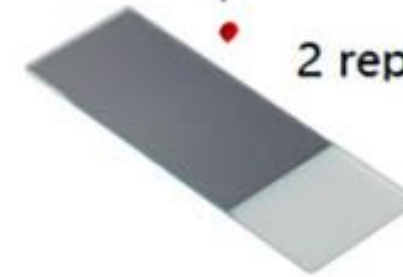
Streaking drops using 0.001-ml loop



Direkt mikroskopik  
değerlendirme



↓  
1 drop  
2 replicates



Gram staining

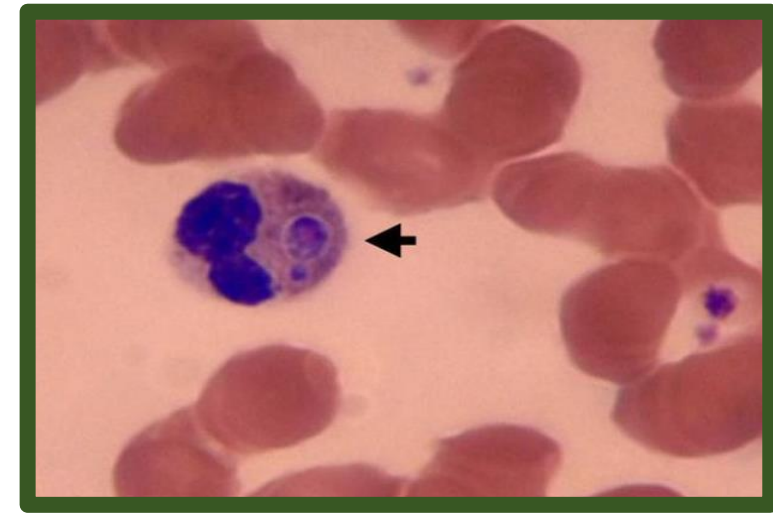
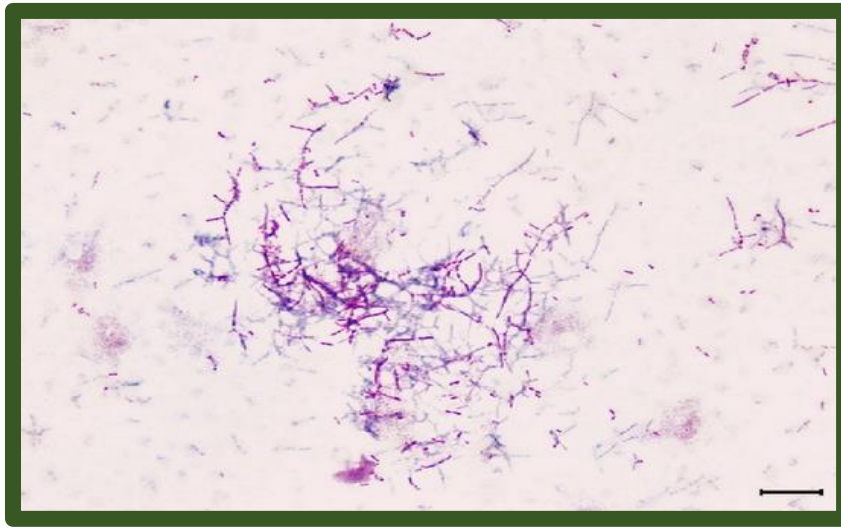
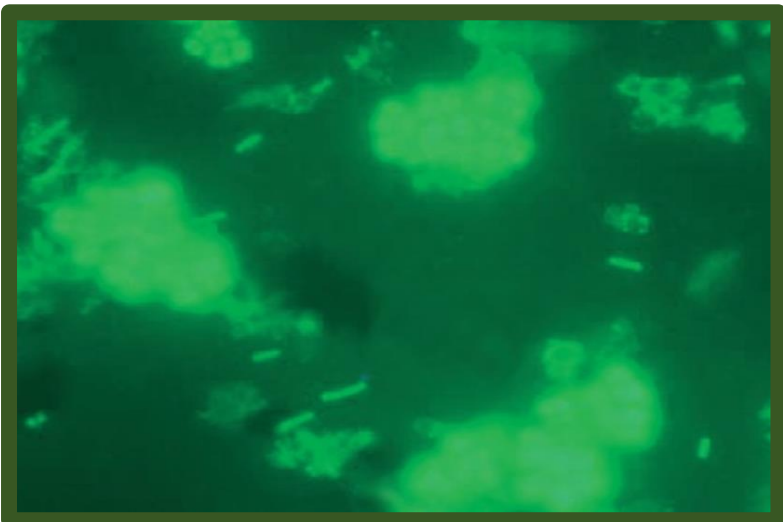
# POZİTİF

## sinyal veren şişeler



### Direkt mikroskopik değerlendirme:

- *Gram Boyama*
- *Modifiye asit fast*
- *Giemsa*
- *Akridin oranj*



# POZİTİF sinyal veren şişeler



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

Pozitif şişe	Standart besiyeri	İnkübasyon koşulları			Değerlendirme sıklığı	Hedef organizma
		Sıcaklık	Atmosfer	Süre		
Aerobik	KKA, ÇA	35-37°C	%5-10 CO <sub>2</sub> 'li	24-48 sa	Günlük	Klinik önemi olabilecek herhangi bir organizma
	EMB/MAC	35-37°C	Aerobik	24-48 sa	Günlük	
Anaerobik	Anaerobik kanlı besiyeri**	35-37°C	Anaerobik	48 sa - 5 gün*	48. sa ve 5. gün*	
	Tiyoglikolat, ÇA	35-37°C	%5-10 CO <sub>2</sub> 'li	24-48 sa	Günlük	

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

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

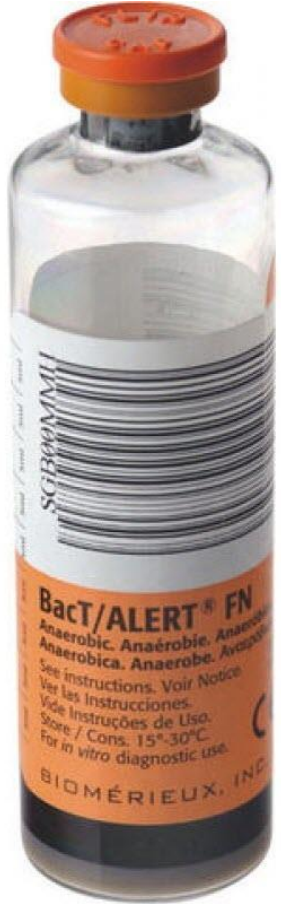
\*\*Anaerobik kanlı besiyerleri: Schaedler kanlı agar, anaerobik bazal kanlı agar veya *Brucella* kanlı agar, vb.

# POZİTİF sinyal veren şişeler

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

Gram boyama	Önerilen ek besiyeri	Ek besiyeri için inkübasyon koşulları			Değerlendirme sıklığı	Olası etkenler
		Sıcaklık (°C)	Atmosfer	Süre		
Küçük Gram-negatif kok, diplokok, kokobasil	-	-	-	-	-	<i>Haemophilus</i> türleri <i>N. meningitidis</i> <i>N. gonorrhoeae</i>
Gram-negatif basil	CLED agar, Kromojenik besiyeri	35-37	Aerobik	16-24 sa	≥16 sa	Enterobacterales üyeleri Non-fermentatifler
Mikroskopisi kanşık ya da anaerobik bakteri morfolojisi	Seçici anaerobik besiyerleri**	35-37	Anaerobik	5-7 gün	48. sa ve 5. gün*	Anaerobik bakteriler
Maya hücreleri; yalancı hif ve hif yapıları	SDA <sup>+</sup>	25-30	Aerobik	5 gün	Her gün	Mayalar ve küfler
	SDA	35-37				
Daha önce yapılan Gram boyamada mikroorganizma görüldüğü halde kültürde üreme yok	KKA, seçici besiyerleri	35-37	Mikroaerofilik	5 gün	3. ve 5. gün	<i>Campylobacter</i> türleri <i>Helicobacter</i> türleri
	KKA'da sütanne fenomeni <sup>§</sup>	35-37	%5-10 CO <sub>2</sub>	40-48 sa	≥40 sa	Nütrisyonel varyant streptokoklar
	Fastidious anaerobik agar	35-37	Anaerobik	5 gün	≥40 sa ve 5. gün	Sisteine ihtiyaç gösteren anaerobik bakteriler
	CLED agar	35-37	Aerobik	16-24 sa	≥16 sa	Sisteine ihtiyaç gösteren mikroorganizmalar

# Anerop şişelerin değerlendirilmesi



- Fakültatif anaeroplara bu besiyerinde daha hızlı ürer
- Hem aerob hem de anaerob ekim yapılmalı



Kanlı agar  
Aerob ortam



Schaedler agar  
Anerob ortam  
Günlük kontrol (7 gün)



## **SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE YORUMLANMASI**

- Etken olduğu düşünölen tüm mikroorganizmalar için
  - Tür düzeyinde tanımlama ve
  - Antimikrobiyal duyarlılık testi yapılır
- Tüm olası kontaminantlar için
  - Tür düzeyinde tanımlama yapılır
  - ADT, sadece etken kabul edilenlere yapılır

## **Etken/kontaminant ayrımı**

- Kan kültürlerinin değerlendirilmesinde en önemli sorun:
  - Etken/ kontaminant ayrımının yapılması
- Kontaminasyona en sık deri mikrobiyotası üyeleri yol açmaktadır

# En sık kontaminantlar

## Deri mikrobiyotası üyeleri

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

## Diğer olası kontaminantlar

- *Clostridium perfringens*
  - Anaerobik kültürlerin en sık kontaminantı
- *Acinetobacter spp*, nonfermenterler, vb
  - Geçici kolonizasyon yapabilir

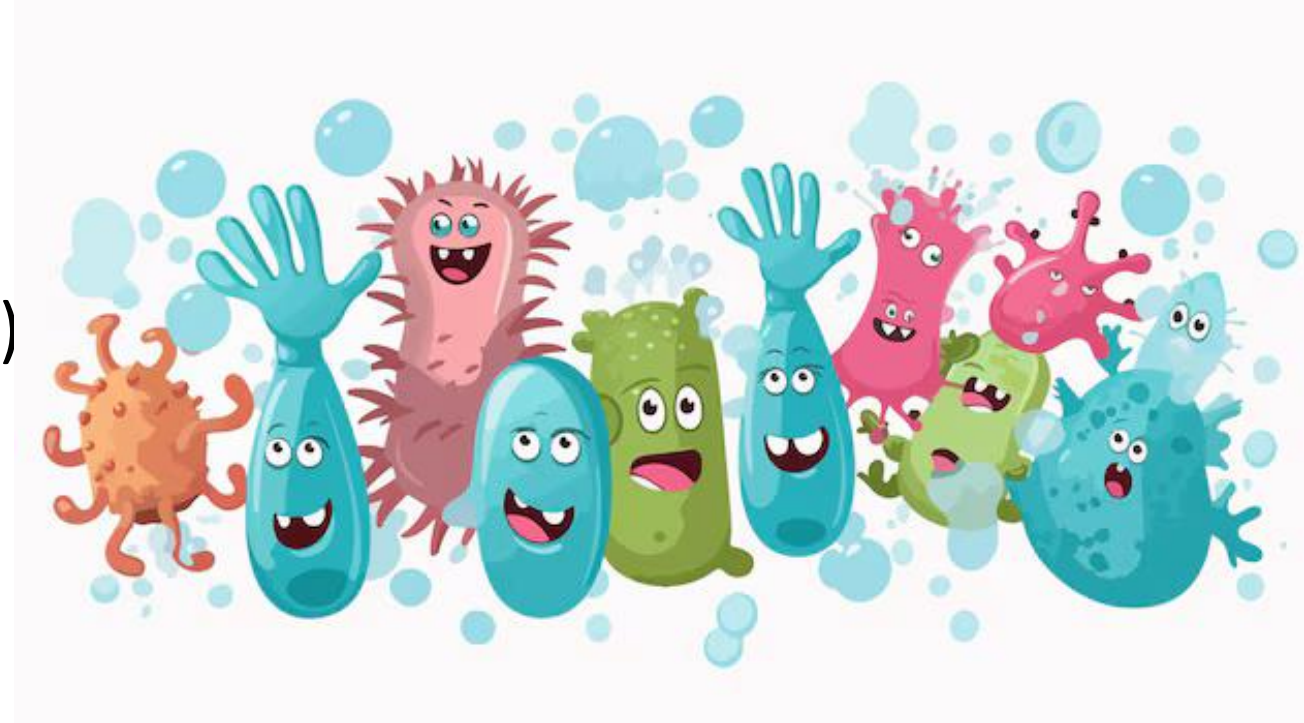
## Etken/kontaminant ayrımı



- Kan kültürü kontaminasyon oranı **%3'ün** altında olmalıdır
  - Kontaminasyon oranları takip edilmeli
  - Gerektiğinde ilgili birimlere eğitim vermelidir

# Etken/kontaminant ayrımında dikkate alınacak ölçütler

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



# Etken/Kontaminasyon???

- Etken diyebilmek için;
- En az iki ayrı damardan alınan kültürlerde aynı etkenin üretilmesi gerekir
- Tür düzeyinde tanımının ve antimikrobiyal duyarlılığının aynı olması gerekir
- Tanımlama ve ADT sonuçları aynı olan izolatlar etken olarak kabul edilir ve raporlanır

# Etken/Kontaminasyon???

- Hastanın bir kültüründe olası bir kontaminant üretildiğinde
  - İsimlendir, ADT çalışılmasına gerek yok,
  - Kontaminasyon şüphesi bildir,
  - Diğer kültürlerinin sonuçları çıkana kadar izolat saklanmalı
  - Diğer kan kültürü/kültürlerinde üreme olması durumunda her iki izolat için tür düzeyinde tanımlama yap, aynı ise ADT uygula
- Tanımlama ve ADT sonuçları aynı olan izolatlar etken olarak kabul edilir ve raporlanır
- Tanımlama veya ADT sonucu farklı bulunduğu takdirde izole edilen bakteriler kontaminant olarak raporlanır

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

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

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

- NOT! Aynı set içinde deri mikrobiyota bakterisi üreyen pozitif şişe sayısı klinik olarak anlamlı enfeksiyonu öngörmede güvenilir değildir!

# İzolatların saklanması

- OLMAZSA OLMAZ
  - Olası kontaminantlar, hastanın diğer kan kültürleri sonuçlanana kadar saklanmalıdır.
- ŞİDDETLE ÖNERİLİR
  - Etken olarak değerlendirilen tüm kan kültürü izolatları, ek çalışmalar için en az 6 ay süreyle saklanmalıdır.
- LABORATUVAR PROTOKOLÜ
  - Saklanacak izolatlar ve saklama süreleri laboratuvarın imkanlarına göre belirlenir (UAMDSS, tezler, bilimsel çalışmalar, vb)



# Polimikrobiyal bakteriyemi

- Polimikrobiyal bakteriyemi insidansı %5
  - Kan kültürü şişeleri bir kez pozitif sinyal verdikten sonra tekrar inkübe edilmedikleri için polimikrobiyal üremelerin gerçek insidansını saptamak güç
- Polimikrobiyal bakteriyemi, çocuklarda ve bağışıklık yetmezliği olan hastalarda daha sık görülür



# Mantarların tanısında kan kültürü

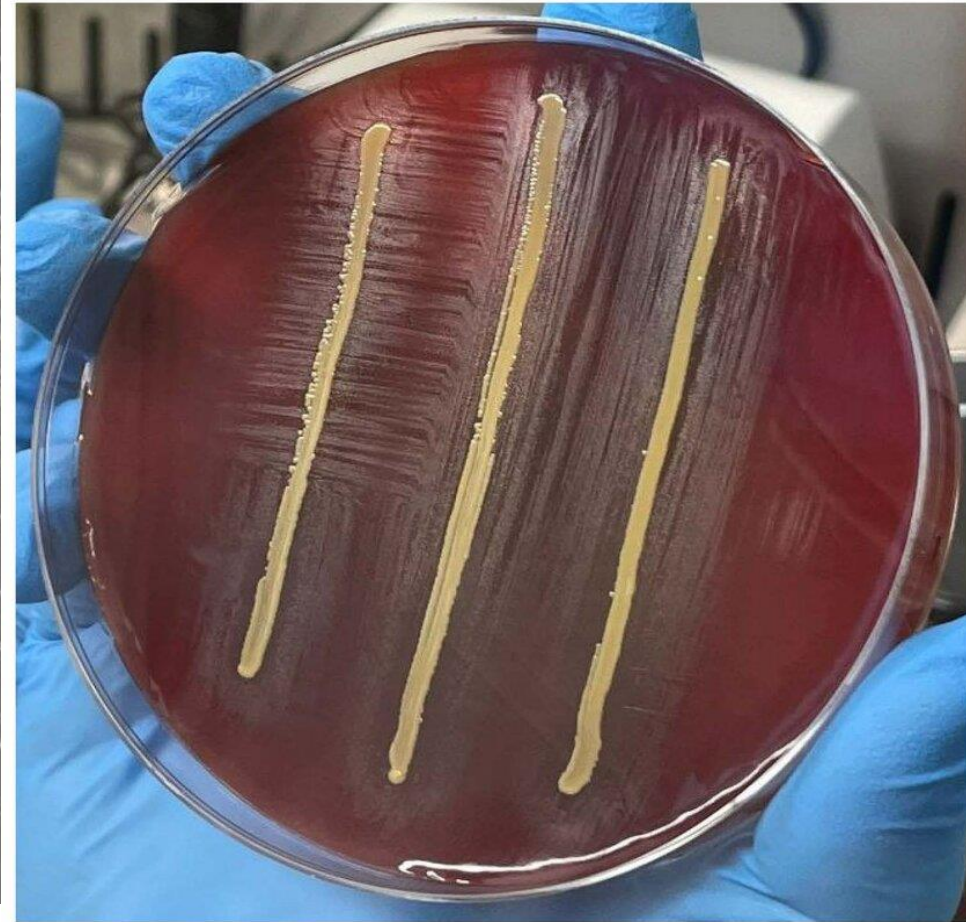
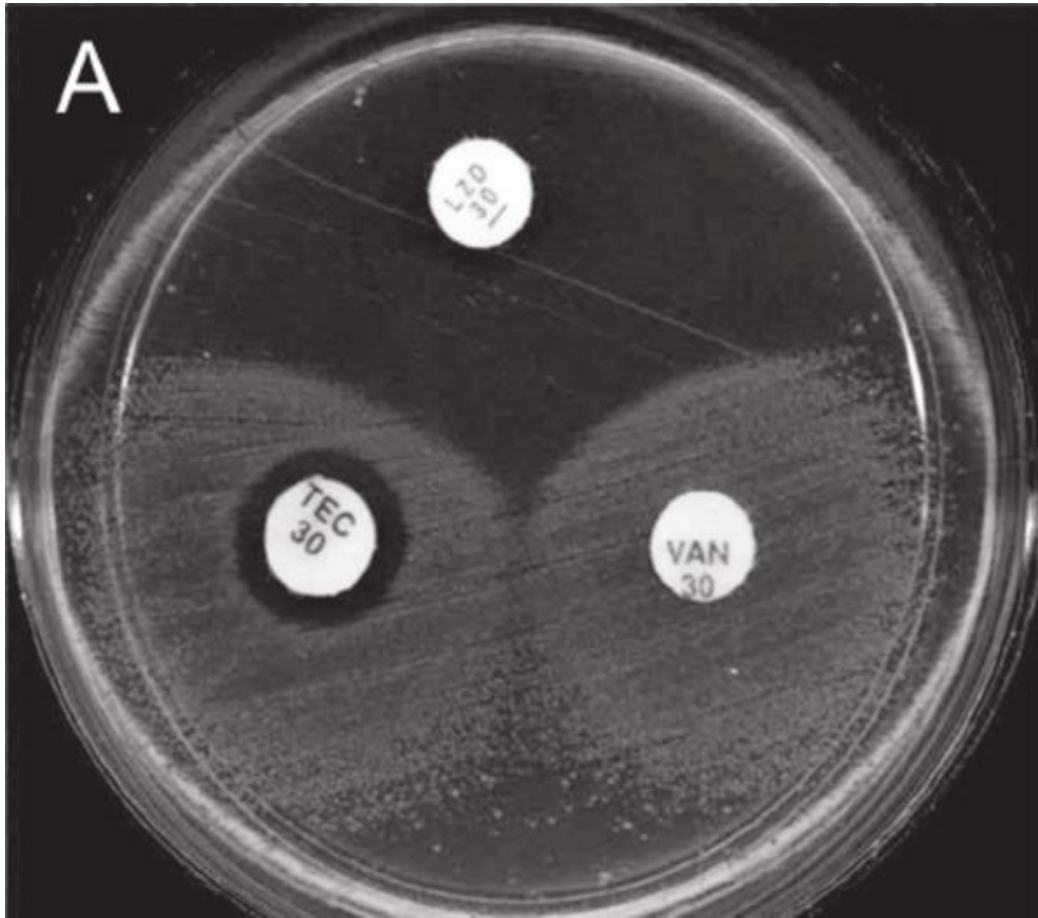
- Tıbbi önemi olan birçok maya, standart kan kültürü şişeleri ile üretilebilir
- Bazı otomatize sistemlerde mikotik kan kültür şişeleri mevcuttur (3 hafta)
- Filamentöz küfler ve dimorfik mantarların (*H. capsulatum* ve *C. immitis*) tanısında ise lizis santrifügasyon sistemi önerilir
- *C. glabrata* anaerobik kan kültürü şişelerinde daha erken üreme sinyali verebilmektedir.
- Pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden SDA besiyerine pasaj yapılır
- ***Aspergillus terreus*** etken olarak bildirilir

# Tutarsız sonuçlar

## Pozitif sinyal, Gram boyama pozitif, pasajda üreme yok

- Hastanın klinik bulgularına ve mikroskopik özelliklerine göre
- Uygun besiyerleri kullanılmalı,
- Uygun koşullarda inkübasyon gerçekleştirilmeli,
- Gerektiği takdirde inkübasyon süresi uzatılmalı

- Nütrisyonel varyant streptokoklar (*Abiotrophia*, *Granulicatella*, vb)
- Vankomisine bağımlı enterokoklar,
- Otolize olmuş *S. pneumoniae*,
- HACEK grubu
- *Brucella* spp.
- *Francisella tularensis*
- *Campylobacter* türleri,
- Yavaş üreyen anaerobik bakteriler



# Tutarsız sonuçlar

## Pozitif sinyal, Gram boyama negatif, pasajda üreme yok

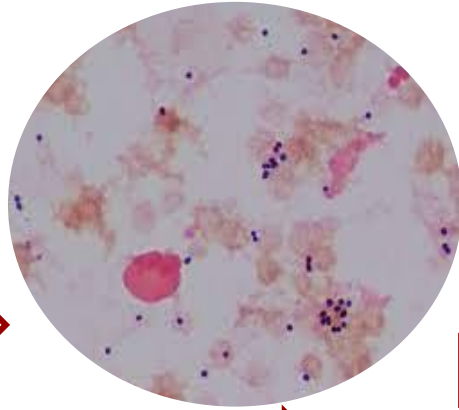
- Yalancı pozitif sinyalin sebebi, eşik değerlerinin çok düşük olması olabilir
- Yalancı pozitif sinyal olarak kabul etmeden önce otomatize sistem üzerinden üreme eğrisi incelenmelidir
- Eğer üreme eğrisi mikrobiyal üremeyi gösteriyorsa, akridin oranj gibi farklı bir boyama yöntemi kullanılır
- Önerilen maksimum kan miktarının aşılması
- Test edilen kanın lökosit düzeyinin yüksek olması,
  - vb. gibi nedenlere bağlıdır.

# Pozitif Kan Kültürü Şişelerinden Hızlı Tanı Testleri

Gram Boyama

Subkültür

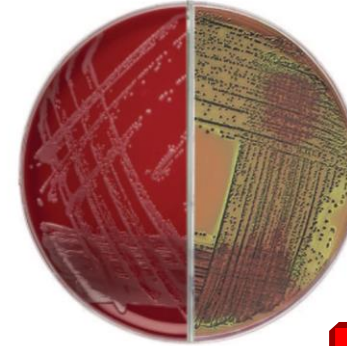
ID-AST



0.2 s

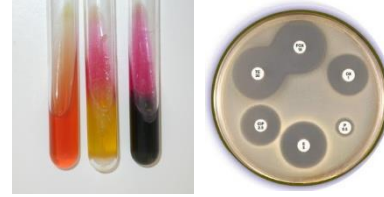


24 s



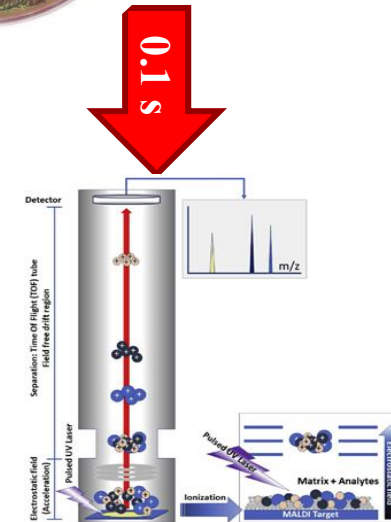
16-24 s

6-8 s



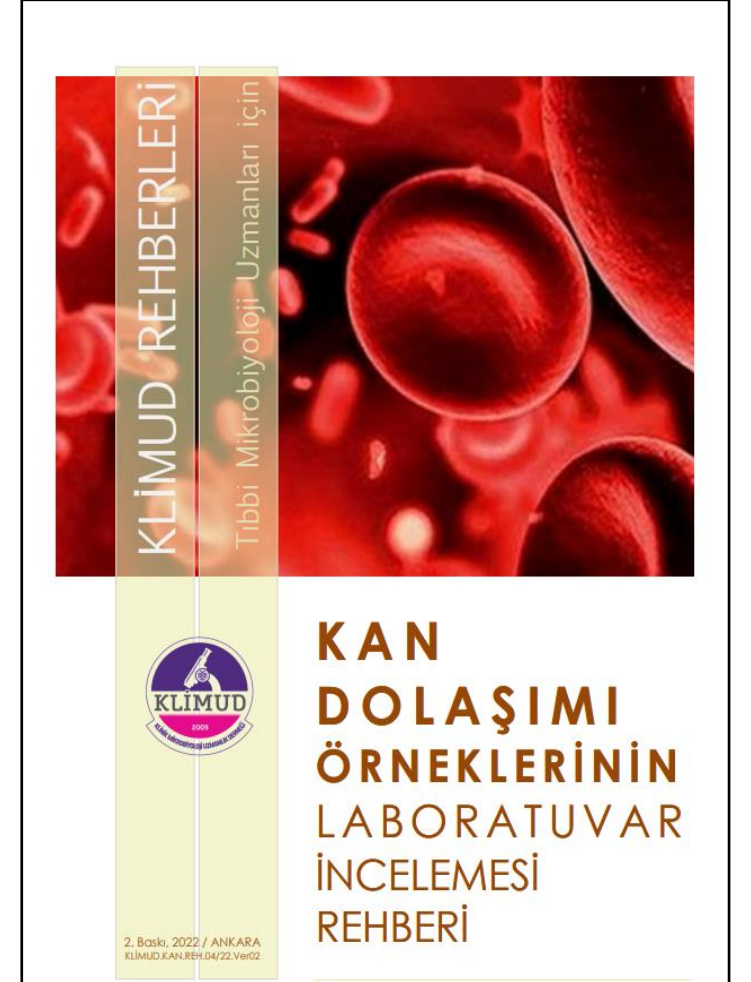
Hızlı Tanı Yöntemleri

0.5-6 s



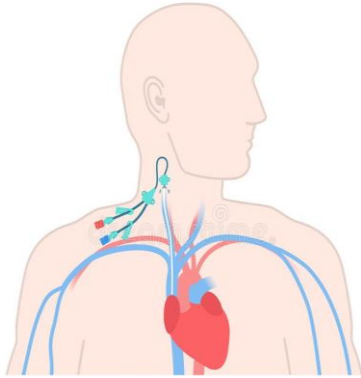
# Kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu (KİKDE)

- "**Altın standart**" olarak tanımlanmış bir yöntem **yok**
- Farklı birkaç yöntem kullanılmakta
- Seçilecek yöntem, kateterin çıkarılıp çıkarılmaması kararına bağlı



## Kateter kalsa da, çıkarılsa da...

- Hem kateterden hem de farklı bir periferik venden olmak üzere iki set kan kültürü alınmalı



Kateter



Periferik kan

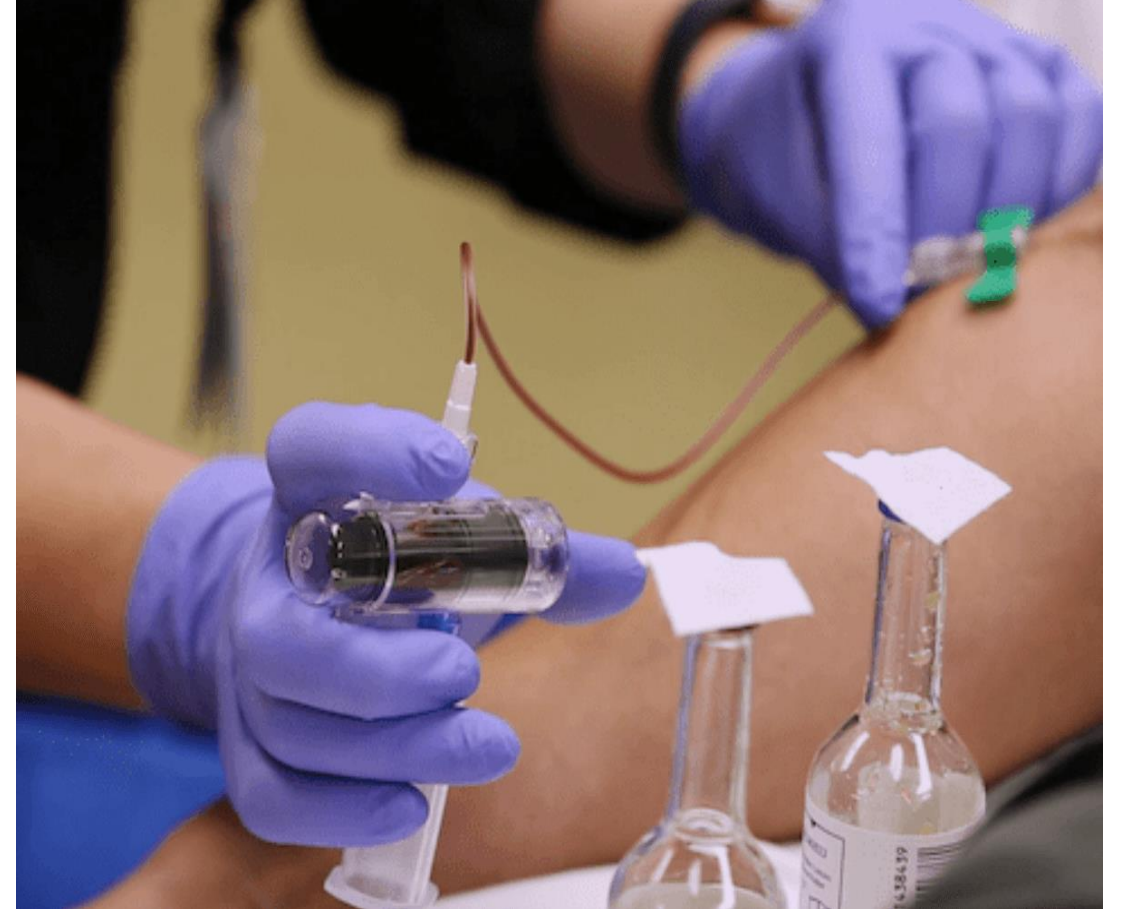
# KİKDE şüphesinde Kan Kültürleri Nasıl Alınmalı?

- Biri kateterden, diğeri periferik bir venden, iki set kan kültürü alınmalı
  - Kan hacmi, şişe başına 10 ml kan
  - **Şişelere aynı miktarda kan koymak önemli**
  - Optimum kan hacmi aerobik şişeye, kalan hacim anaerobik şişeye (anaerobik insidans düşük)



# KIKDE şüphesinde Kan Kültürleri Nasıl Alınmalı?

- Kan kültürü şişeleri uygun şekilde işaretlenmeli
  - Periferik ven, kateter, port vb.
- Çok lümenli venöz kateterler için, tüm lümenlerden aynı hacimde kan alınması önerilmekte



# Kateterin korunduđu durumlarda-1

- **1. Otomatize Kan Kültürü**
- KİKDE tanısı için;
  - İlk reme kateterden alınan kan kültüründe olmalı > 120 dk
  - Farkın <120 dk az olması tanıyı dışlamaz
  - Her iki setten ADT sonuçları birbirinin aynı olan aynı tür mikroorganizma izole edilirse (ve başka bir enfeksiyon odağı yoksa)



# Kateterin çıkartıldığı durumlar

- Kateterin ıkartılmasından önce kan kültürleri alınır....
- Kateter ucunun kültürü iki Şekilde yapılabilir:
  - I. Semikantitatif kültür
    - Modifiye Maki Yöntemi
  - II. Kantitatif kültür
    - Sonikasyon yöntemi



# KİKDE tanısında, kan kültürleri nasıl yorumlanmalı?

- **KİKDE (-)**: Kan kültüründe üreme olmayıp yalnızca kateter ucu kültüründe anlamlı üreme saptanması halinde; kateter kolonizasyonu düşünülmelidir.
- **KİKDE (-)**: Hem kan kültürleri hem de kateter ucu kültürleri negatif ise KİKDE düşünülmez.



# KIKDE tanısında, kan kültürleri nasıl yorumlanmalı?

- **KIKDE (+):** Kateterden ve periferden alınan kan kültüründe aynı mikroorganizmanın üremesi
  - 120 dakikalık ara, %94 duyarlılık ve %94 özgüllüğe sahip

**KIKDE (+):** Hem periferik kan hem de kateter ucu kültüründen aynı mikroorganizmanın üremesi

- (Modifiye Maki yöntemi ile 15 koloni veya kantitatif yöntemle 100 CFU anlamlı)



# KAN/KATETER KÜLTÜRÜ SONUÇLARININ RAPORLANMASI

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

# SONUÇLARIN RAPORLANMASI

- Her yeni bilgi, ilgili klinik/hekime derhal bildirilmelidir.
- Bildirim mutlaka kayıt altına alınmalıdır
- Bildirimi yapan kişinin adı soyadı, bildirim saati, verilen bilgi ile bildirim yapılan kişinin unvanı, adı ve soyadı kayıt altına alınmalıdır.



# POZİTİF KÜLTÜRLERİN RAPORLANMASI

- Raporda; Gram boyama, üreme süresi, üreyen mikroorganizmanın tanımlama sonucu ve ADT sonuçları yer almalıdır.
- Rapor açıklayıcı ve anlaşılır olmalıdır.
- Gönderilen set sayısı ve üreyen şişe sayısı bildirilmeli

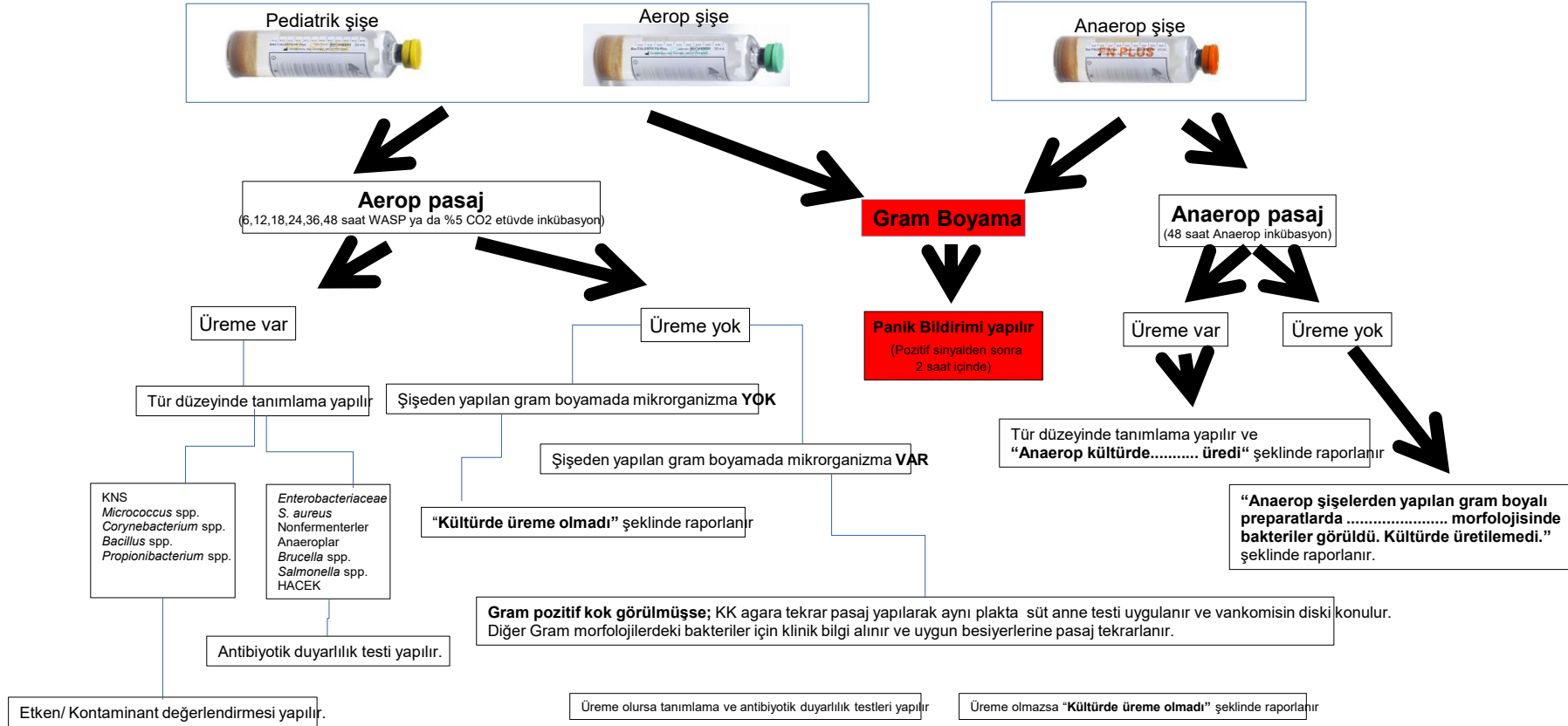
# KONTAMİNASYON DÜŞÜNÜLEN KAN KÜLTÜRLERİNİN RAPORLANMASI

- Raporda kontaminasyon olduğu düşünülen etkenin ürettiği set, setteki şişe sayısı ve türü, üreme süresi ile örneğin alındığı yer (santral venöz kateter veya sağ/sol kol gibi) yazılması önerilir.
- Klinisyenler tarafından yanlış anlaşılma riski olduğu için “kontaminant” kelimesinin kullanılmasından kaçınılmalıdır. Bunun yerine;
  - «Bu izolat, cilt mikrobiyota elemanı olabilir. Gerekli görüldüğü takdirde ileri değerlendirme için mikrobiyoloji laboratuvarı ile iletişime geçiniz.» ifadesi kullanılır.

# KAN KÜLTÜRÜ KALİTE KONTROLÜ

1. Kan kültürlerinde kontaminasyon oranı
2. Kan kültürlerinde direkt Gram boyama ve son tanımlama uyum oranı
3. Kan kül türünde pozitif sonuç oranı
4. İkive üzeri set kan kültürü alınma oranı
5. Tek şişe alınan kan kültürü seti oranı
6. Alındıktan sonra iki saat içinde laboratuvara teslim edilmeyen kan kültürü seti oranı
7. Kan kültüründe yalancı pozitiflik oranı
8. Pozitif sinyal anı ile bildirim anı arasında geçen ortalama süre

## Pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinin değerlendirilmesi



# Kan Kültürü Alımı ve Kontaminasyonun Engellenmesi için Kısa Bilgilendirme Notu



## KAN KÜLTÜRÜ ALINMASI VE KONTAMİNASYONUN ENGELLENMESİ

### Ne zaman kan kültürü almalıyım?

Genel olarak hastanın ateşinin yükselmeye başladığını fark ettiğiniz anda kan kültürü alınması önerilir. Mikroorganizmanın kanda en yüksek bulunduğu an, ateşin yükselmeye başladığı andır.

### Kaç set kan kültürü almalıyım?

En az iki set kan kültürü alınması önerilir. Bir set; bir damar girişiyle alınan tüm şişeleri belirtir. Her sette bir aerop bir anaerop şişe bulunmalıdır. Bu şekilde etken mikroorganizmalar optimal şekilde üretilebilir.

Hastadan özel koşullar nedeniyle yeterli kan alınamıyorsa her sette sadece bir aerop şişe kullanılabilir. Setler ardışık olarak 5-30 dakika arayla farklı koldan ya da aynı koldan alınabilir.

### Her şişeye ne kadar kan koymalıyım?

Her şişeye 10-15 ml kan konulması önerilir. Alınan kan miktarında her bir mililitrelik artış, kan kültürü şişesine konulacak optimal miktarı aşmamak koşuluyla, etken mikroorganizma saptanma olasılığını %3 oranında arttırmaktadır. Kan kültürü şişesine aktarılan kan miktarının yetersiz ya da gereğinden fazla olması durumunda yalnızca negatif sonuçlar elde edilebilir.

### Ne kadar sürede laboratuvara yollamalıyım?

En fazla iki saat içinde laboratuvara yollayınız.

### Kontaminasyonu nasıl engellerim?

- \*Kan almadan önce kan kültürü şişelerinin üstü alkollü pamukla silinip kurutulmalıdır.
- \*Hastadan istenen başka tetkikler varsa, kan önce kan kültürü şişelerine daha sonra diğer tüplere dağıtılmalıdır.
- \*Cilt temizliğinin yeterli yapılmaması en sık kontaminasyon kaynağıdır. Cilt temizliği iki aşamalı yapılırsa:
  - 1.%70 alkollü pamuk cilde sertçe sürtülür 30 sn kurumaması beklenir
  2. İyot ya da klorheksidinli pamuk ortadan başlayıp daireler çizilerek sürülür ve 1 dakika kurumaması beklenir. Cilt temizliği yapıldıktan sonra elle palpasyon kesinlikle yapılmamalıdır.

### Kateterden kan kültürü alabilir miyim?

**Hayır.** Kateterlerde cilt bakterileri kolayca kolonize olabileceği için kan örneğinin buradan alınması yalnızca pozitifliklere neden olur.

### Kateter kaynaklı enfeksiyon düşünüyorsanız nasıl örnek almalıyım?

Bir set kateterden, bir set perifer bir venden alınmak üzere eş zamanlı iki set gönderilmelidir. Her iki sette aynı bakterinin üremesi kateter ilişkili enfeksiyon olduğunu gösterir. Sadece kateterden alınan tek sette üreme olması etken/kolonizasyon ayırımının yapılmasına yardımcı olmaz.

# KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNİN İŞLENMESİ VE İŞ AKIŞI

TANI YÖNTEMLERİ VE TANIDA YAŞANAN ZORLUKLAR

Prof. Dr. İpek Mumcuođlu

Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı