

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**BACTEC PLUS AEROBİC / F ve BACTEC PLUS
ANAEROBİC / F OTOMATİZE ERİŞKİN KAN KÜLTÜR
ŞİŞELERİNDEKİ İZOLATLARIN ÜREMELERİNİN VE
ÜREME ZAMANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Suat YILDIZ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2017

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**BACTEC PLUS AEROBİC / F ve BACTEC PLUS
ANAEROBİC / F OTOMATİZE ERİŞKİN KAN KÜLTÜR
ŞİŞELERİNDEKİ İZOLATLARIN ÜREMELERİNİN VE
ÜREME ZAMANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Suat YILDIZ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI

Prof.Dr.Gül DURMAZ

ESKİŞEHİR

2017

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. Suat YILDIZ'a ait " BACTEC Plus Aerobic / F ve BACTEC Plus Anaerobic / F otomatize erişkin kan kültür şişelerindeki izolatların üremelerinin ve üreme zamanlarının karşılaştırılması" adlı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında tıpta uzmanlık tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Gül DURMAZ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye

Doç. Dr. Abdurrahman KİREMİTÇİ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye

Doç. Dr. Aynur GÜLCAN

Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulunun.....Tarih veSayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. Alparslan BİRDANE

Rektör Yardımcısı

Dekan Vekili

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı hazırlarken bana her zaman destek olan, tezimin konusunun belirlenmesi, araştırma aşaması, yön tayini ve tamamlanmasında yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, her konuda rahatlıkla ulaşıp danıştığım değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Gül DURMAZ'a; Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince yardım ve desteklerini esirgemeyen, bilgileriyle beni aydınlatan değerli hocalarım Prof. Dr. Yurdanur AKGÜN'e, Prof. Dr. Tercan US'a, Prof. Dr. Nihal DOĞAN'a, Doç. Dr. Abdurrahman KİREMİTÇİ'ye, Doç. Dr. Nilgün KAŞİFOĞLU'na, Doç. Dr. Yasemin ÖZ'e; tezimin istatistik ve analiz kısmında yardımlarını esirgemeyen Halk Sağlığı Anabilim Dalı araştırma görevlisi Dr. Gülsüm ÖZTÜRK'e destekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

Yıldız, S. BACTEC Plus Aerobic / F ve BACTEC Plus Anaerobic / F otomatize erişkin kan kültür şişelerindeki izolatların üremelerinin ve üreme zamanlarının karşılaştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2017. Dolaşım sistemi enfeksiyonları, antimikrobiyal ve destekleyici tedavilere rağmen morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenleri olmaya devam etmektedir. Bu nedenle erken tanısı ve uygun tedavi edilmesi klinik açıdan önemlidir. Kan kültürleri dolaşım sistemi enfeksiyonlarının tanısında altın standart yöntemdir. Bu çalışmada, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına bir yıl boyunca erişkin servislerden transport kurallarına uygun olarak gelen kan kültür setleri değerlendirmeye alınmıştır. Kan kültür setlerini oluşturan BACTEC Plus Aerobic/F ve BACTEC Plus Anaerobic/F kan kültür şişeleri, üreyen izolatlar ve üreme zamanları açısından karşılaştırılmıştır. *Pseudomonas* sp, *acinetobacter* sp ve fungus üremelerinin çoğu anaerobik şişeye kıyasla aerobik şişede tespit edilmiştir ($P < 0.05$). *E.coli*, *Serratia marcescens* izolatları ise aerobik şişeye kıyasla anaerobik şişede daha fazla tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Ortalama pozitif sinyal süreleri aerobik ve anaerobik şişeler için sırasıyla 18.5 ve 20.9 saat bulunmuştur. İlk 72 saat içerisinde klinik açıdan anlamlı bakteri ve mantar izolatlarının sırasıyla %97.2 ve % 94.9 ‘u tespit edilmiştir. Pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinde gram pozitif kok, non fermenter gram negatif basil, gram pozitif basil ve fungus üremelerinin çoğu aerobik şişede daha erken tespit edilmiş ve aradaki fark anlamlı bulunmuştur. *Serratia marcescens* dışındaki *Enterobacteriaceae* ailesi için anaerob kan kültür şişesinde aerob şişeye göre daha erken pozitif sinyal izlenmiştir. Pozitif sinyal veren kan kültürlerinde artan kan volümü ile tespit edilen izolat sayısı artış göstermiştir ama artan kan volümü ile pozitif sinyal süreleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu verilere göre *Enterobacteriaceae* gibi fakültatif anaerob bakterilerin sebep olduğu kan dolaşımı enfeksiyonlarının hızlı tespitinde, aerob ve anaerob kan kültür şişelerinin birlikte kullanımının ve alınan kan hacminin çok değerli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Kan kültürü, üreme zamanı

ABSTRACT

Yildiz, S. Comparison of the growth and growth durations of the isolates in the BACTEC Plus Aerobic / F and BACTEC Plus Anaerobic / F of the automated adult blood culture bottles. Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Medical Microbiology Department, Eskisehir, 2017. Despite the antimicrobial and supportive treatments, circulatory system infections remain leading causes of morbidity and mortality. Therefore, early diagnosis and appropriate treatment are clinically important. Blood cultures are the gold standard method for diagnosing of the circulatory system infections. In this study, during the year blood culture sets received from adult services in Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine were accepted by Department of Medical Microbiology according to the transportation rules. BACTEC Plus Aerobic / F and BACTEC Plus Anaerobic / F blood culture bottles, which produced blood culture sets, were compared in terms of growth durations and isolates. Most of the *Pseudomonas* sp, *Acinetobacter* sp, and fungus growth were detected in aerobic bottles compared to anaerobic bottles ($P < 0.05$). *E. coli* and *Serratia marcescens* isolates were detected more in the anaerobic bottle than in the aerobic bottle ($P < 0.05$). Mean positive signaling durations were 18.5 and 20.9 hours for aerobic and anaerobic bottles, respectively. Within first 72 hours, clinically significant bacterial and fungal isolates were detected as 97.2% and 94.9%, respectively. Most of fungi, gram positive bacterias such as cocci, bacilli and non-fermenter gram negative bacilli were detected earlier in the aerobic blood culture bottles among all blood culture bottles giving a positive signal and the difference was found to be significant. An earlier positive signal was observed on the anaerobic blood culture bottles for *Enterobacteriaceae* isolates except *Serratia marcescens* compared to the aerobic blood bottles. The number of isolates detected in the blood culture bottles giving positive signals increased by increasing the blood volume but there was no significant difference between positive signal durations by increasing the blood volume. According to these results, the simultaneous use of aerobic and anaerobic blood culture bottles and the blood volume obtained are very significant in the rapid detection of blood circulation infections by facultative anaerobic bacteria such as *Enterobacteriaceae*.

Key Words : Blood culture, growth duration

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Dolaşım Sistemi Enfeksiyonlar	2
2.2. Bakteriyemi ve Sepsis Sınıflandırılması	2
2.3. Bakteriyemi Sınıflandırılması	3
2.3.1. Kaynak Yerine Göre Sınıflandırma	3
2.3.2. Etkene Göre Sınıflandırma	3
2.3.3. Kazanılma Yerine Göre Sınıflandırma	3
2.3.4. Süreye Göre Sınıflandırma	3
2.4. Epidemiyoloji	4
2.5. Risk Faktörleri	4
2.6. Mikrobiyoloji	5
2.7. Patogenez	6
2.8. Dolaşım Sistemi Enfeksiyon Tipleri	7

	Sayfa
2.8.1. İnvasküler Enfeksiyonlar	7
2.8.2. Eksravasküler Enfeksiyonlar	8
2.9. Bakteriyemi ve Sepsiste Tanı	9
2.9.1. Kan Kültürü Endikasyonları	10
2.9.2. Kan Kültürü Alım Tekniği	10
2.9.3. Kan Kültürü Sonuçlarını Etkileyen Teknik Değişkenler	12
2.9.4. Kan Kültürü Sistemleri	18
2.9.5. Kan Kültürü Pozitiflik Zamanı	26
2.9.6. Pozitif Kan Kültürlerinden Yapılan Preparatların İncelenmesi	26
2.9.7. Pozitif Kan Kültürlerinin İlk Pasajları	27
2.9.8. Pozitif Kültür Sonuçlarının Değerlendirilmesi	27
2.9.9 Kan Kültür Besiyerinden Doğrudan Tanımlama ve Duyarlılık Testi Uygulanması	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Kan Kültür Sisteminde Yapılan İşlemler	29
3.1.1. BACTEC 9240	29
3.1.2. Kan Kültür Şişelerinin İçerikleri	29
3.1.3. Üreme Değerlendirilmesi	30
3.1.4. Subkültürler İçin Kullanılan Besiyerleri	31
3.2. Bakterilerin Tanımlanması ve Antibiyogram Testleri	33
3.2.1. Geleneksel Testler	34
3.2.2. Phoenix (BD, ABD) ve Vitek (Biomerieux, Fransa) Bakteri Tanımlama Panelleri	35
3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi	37

	Sayfa
3.4. İstatistik Analiz	38
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AST	Antibiotic Susceptibility Testing
CLSI	Clinical Laboratory Standarts Institute
DIK	Dissemine intravasküler koagülasyon
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
GSBL	Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
KOB/ml	Koloni oluşturan birim/mililitre
LPS	Lipopolisakkarit
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time of Flight
Mass Spectrometry	
MRSA	Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
RES	Retiküloendotelyal sistem
SDA	Saboraud dekstroz agar
SPS	Sodyum polyanetholsulfonate
TNF	Tümör nekroz faktörü

ŞEKİLLER

	Sayfa
4.1. Kan kültürlerinin servislere göre dağılımı	39
4.2. Aerobik ve anaerobik şişede üreyen mikroorganizma gruplarının dağılımı	42
4.3. Kan kültürlerinde üreyen gram negatif bakterilerin dağılımı	42
4.4. Kan kültürlerinde üreyen gram pozitif bakterilerin dağılımı	43
4.5. Kan kültürlerinde üreyen zorunlu anaerob bakterilerin dağılımı	43
4.6. Kan kültürlerinde üreyen mayaların dağılımı	44
4.7. Kan kültürü kontaminantı olan bakterilerin dağılımı	44
4.8. Kan kültürü kontaminantı olan KNS'lerin dağılımı	45
4.9. Kan kültürü şişelerindeki ortalama örnek hacmi ve tespit edilen izolat sayısı	46

TABLÖLAR

	Sayfa
2.1. Ticari olarak mevcut olan sürekli monitörize kan kültür sistemlerinin özellikleri	25
3.1. Gram negatif bakteri identifikasyon panelinde bulunan biyokimyasal reaktifler	36
3.2. Gram pozitif bakteri identifikasyon panelinde bulunan biyokimyasal reaktifler	36
4.1. Kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar	41
4.2. Kan kültürü sonuçlarının genel değerlendirmesi	41
4.3. Pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinden yapılan gram boyama değerlendirmesi	45
4.4. Aerob ve anaerob kan kültür şişelerinde üreyen izolatların üreme zamanlarının karşılaştırılması	47
4.5. Aerob ve anaerob kan kültür şişelerinde üreyen izolatların karşılaştırılması	48
4.6. Kliniklerden gelen kan kültür şişelerindeki ortalama hacim	49

RESİMLER

	Sayfa
2.1 Septi-Chek sistemi iki fazlı kan kültür şişeleri	19
2.2 Oxoid Signal kan kültür sistemi şişesi	20
2.3 Isolator kan kültürü sistemi	21
2.4 BacT/Alert 3D kan kültür sistemi	22
2.5 BacT/Alert kan kültür plastik şişeleri	22
2.6 BACTEC kan kültür sistemi	23
2.7 BACTEC kan kültür şişeleri	24
2.8 Versa-TREK kan kültür sistemi	25
2.9 Versa-TREK kan kültür şişeleri	25

1. GİRİŞ

Bakteriyemi, viremi ve fungemi sırasıyla, bakteri, virüs ve mantarların dolaşım sisteminde bulunmasıdır (1-3). Sepsis, birçok sistemi tutan, özellikle hemodinamik değişikliklere yol açan, şok, organ fonksiyon bozukluğu ve organ yetmezliğine kadar giden öldürücü bir enfeksiyon hastalığıdır (4-6).

Dolaşım sistemi enfeksiyonları, antimikrobiyal ve destekleyici tedavilere rağmen morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenleri olmaya devam etmektedir. Bu nedenle dolaşım sistemi enfeksiyonlarının erken tanısı ve uygun tedavi edilmesi klinik açıdan önemlidir. Kan kültürleri, şüpheli enfeksiyon vakalarında mikrobiyal etiyojoloji tanımlar ve tedavinin yönlendirilmesinde rol oynar (7-9).

Toplumda ileri yaş grubunun artması, kronik hastalığı olanların yaşam sürelerinin uzaması, bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaçların kullanımının yaygınlaşması ve teşhis ve tedavi amacı ile uygulanan invaziv girişimlerdeki artış, sepsis görülme sıklığını artıran faktörlerdendir. Yatak kapasitesi fazla olan, yoğun bakım birimleri bulunan ve invaziv işlemlerin sık yapıldığı hastanelerde hastane kaynaklı sepsis daha fazla görülmektedir (4).

Bakteriyemi ve fungemi tespitinde kan kültürü altın standart olmaya devam etmektedir. Son yıllarda birçok gelişme ile kan kültürlerinde patojen tespit oranı arttırılmıştır. Bunlar; yeni sıvı besiyerlerinin geliştirilmesi, besiyerlerine üreme faktörlerinin ilave edilmesi ve üreme inhibitörleri/metabolik ürünler/antibiyotik kalıntılarının nötralizasyonudur. Sürekli monitörize kan kültür sistemleri, besiyerinde üreyen mikroorganizmaların oluşturduğu karbondioksidi florometrik, kolorimetrik ya da manometrik sensörler ile ölçmektedir. Kan kültürü pozitifliği için ortalama tespit süresi hâlâ ortalama 15 saattir (2,6-127 saat) (10-12).

Kan dolaşımı enfeksiyonlarında anaerob bakterilerin nadiren etken olması, anaerobik kan kültür şişelerinin rutin kullanımı konusunda ikileme neden olmuştur. Bununla birlikte anaerob kan kültür şişelerinin fakültatif anaerob bakterilerin tespitinde daha iyi performans göstermesi, rutinde kullanılmaması durumunda kan dolaşımı enfeksiyonlarının tanısında eksiklik yaratacağını düşündürmüştür (13).

Bu çalışmanın amacı, kan dolaşımı enfeksiyonlarının en kısa sürede saptanmasında, aerobik ve anaerobik kan kültür şişelerinin birlikte kullanımının ve alınan kan hacminin etkisini yorumlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kan Dolaşımı Enfeksiyonları

Dolaşım sisteminin mikroorganizmalarca invazyonu enfeksiyon hastalıklarında önemli bir yer teşkil eder. Birçok bakteri, virüs, mantar ve parazit, enfeksiyonun seyri sırasında dolaşımında bulunabilir vücuttaki tüm organları tehdit edebilir. Dolaşım sisteminin mikrobiyal invazyonu şok, çoklu organ yetmezliği, yaygın damar içi pıhtılaşma (Dissemine intravasküler koagülasyon, DİK) ve ölüm gibi ciddi sonuçlara sebep olabilir. Bu nedenle, etken patojenlerin erken tespiti ve identifikasyonu mikrobiyoloji laboratuvarının en önemli görevlerinden biridir (14).

2.2. Bakteriyemi ve Sepsis

Bakteriyemi, fungemi ve viremi; bakteri, mantar ve virüslerin vasküler sistemde dolaştığı durumlardır (2-3). Dolaşım sisteminde bu organizmaların varlığı semptomlar verebilir ya da vermeyebilir. Eğer hastada herhangi bir belirti yoksa bu “sessiz” ya da “subklinik” durum olarak isimlendirilir. Semptomlar mikrobiyal toksin ve/veya inflamatuvar hücrelerin ürettiği sitokinlerin salınımına bağlıdır (2). Bakteriyemi çoğu kez invaziv girişimler, hastanede yatış ya da çeşitli müdahaleler ile ilişkilidir (3, 15).

Bakteriyemi genellikle sistemik fizyolojik cevap ile sonuçlanır. Bu cevaplar; sepsis (enfeksiyona sistemik cevap), ciddi sepsis (sepsise eşlik eden organ fonksiyon bozukluğu, hipotansiyon ya da doku hipoperfüzyonu) ve septik şok (sepsise eşlik eden inatçı hipotansiyon) gibi durumlardır. Ölüm riski bu sıralama ile gittikçe artar (3). Septik hastaların %70’inden fazlasında enfeksiyonun kesin klinik belirtilerine rağmen kan kültürleri negatif olabilir (3, 16).

2.3. Bakteriyemi Sınıflandırması

2.3.1. Kaynaklandığı Yere Göre Sınıflandırma

Kaynaklandığı yere göre bakteriyemiler “primer” ve “sekonder” olarak sınıflandırılır. Primer bakteriyemi, genellikle enfekte kalp kapakları ya da intravenöz kateter gibi endovasküler bir kaynaktan ortaya çıkarlar. Sekonder bakteriyemi ise bir

organ ya da dokudaki enfeksiyon etkeni mikroorganizmanın kana geçişi ile olur, aynı bakterinin idrar, solunum sekresyonu, dren sıvısı vb. örneklerin kültüründe ve eş zamanlı kan kültüründe gösterilmesi ile kanıtlanır (2, 3, 17).

2.3.2. Etkene Göre Sınıflandırma

Bakteriyemi kan dolaşımına invaze olan spesifik patojen ya da genel mikroorganizmalara göre sınıflandırılabilir. Gram pozitif bakteriyemi *S. pneumoniae*, *S. aureus* ya da *Enterococcus faecium* gibi organizmalar ile oluşurken, gram negatif bakteriyemi *E. coli* ya da *P. aeruginosa* gibi bakteriler ile oluşur. Anaerobik bakteriyemide etken sıklıkla *Bacteriodes fragilis* iken, polimikrobiyal bakteriyemi birden fazla organizma ile oluşur. Bakteriyemilerin bu şekilde sınıflandırılması, bakteriyeminin kökeni için ipucu sağlayabilir ve tedaviye yol gösterebilir (3).

2.3.3. Kazanılma Yerine Göre Sınıflandırma

Toplum kaynaklı bakteriyemi, toplumda yaşayan bireylerde oluşurken; hastane kaynaklı bakteriyemi hastanede yatan ya da huzurevi gibi devamlı bakım merkezlerinde yaşayan hastalarda oluşur (2, 3, 18). Hastane kaynaklı bakteriyemi, hastaneye kabulden en az 72 saat sonra bakteriyeminin oluşması olarak tanımlanmaktadır (3, 18). Bazı bakteriyemiler genellikle toplum kaynaklıdır. Örneğin *S. pneumoniae* bakteriyemilerinin %90'dan fazlası toplum kaynaklıdır. *P. aeruginosa* ya da enterokok türleri gibi sıklıkla özel direnç mekanizmaları ile çoklu antimikrobiyale karşı direnç gösteren mikroorganizmaların neden olduğu bakteriyemi ise büyük olasılıkla hastane kaynaklıdır (19).

2.3.4. Süreye Göre Sınıflandırma

Bakteriyemik olayın süresine göre bakteriyemi; geçici, aralıklı ya da sürekli olabilir (2, 3, 11, 14). Geçici bakteriyemi, kendiliğinden oluşabileceği gibi, normal flora ile kolonize olan ağız, gastrointestinal sistem ve ürogenital sistem gibi bazı vücut bölgelerine müdahale sonucu da oluşabilir (2, 3, 11, 14, 20).

Aralıklı bakteriyemi, bakterinin enfekte alandan belirli aralıklarla kana salınması ile oluşur (2). Bazı bölgelerde abse varlığında görülebileceği gibi

meningokoksemi ve gonokoksemi gibi enfeksiyon türlerinin de klinik göstergesidir (3, 11, 20).

Sürekli bakteriyemi, organizmalar intravasküler kaynaktan geldiği zaman ya da dolaşımında yoğun olarak bulunduğu zaman oluşur (3, 11, 20). Septik şok, bakteriyel endokardit ve diğer endovasküler enfeksiyonlarda organizmalar kan akımında sürekli bulunurlar (2, 11, 14). Her ne kadar enfekte intravenöz kateter ya da septik trombüs gibi endovasküler kaynaklar sürekli bakteriyemi ile sonuçlansa da en yaygın sürekli bakteriyemi ile sonuçlanan klinik tablo enfektif endokardittir (3). Ayrıca bazı özgül enfeksiyonların erken evreleri boyunca (tifoidal ateş, brusellozis ve leptospirozis) bakteriler kan akımında sürekli bulunurlar (14).

2.4. Epidemiyoloji

Bacillus pyocyoneus (şimdiki adı *P. aeruginosa*) ile oluşan ilk bakteriyemi vakası 1899 yılında Brill tarafından raporlanmıştır. On yıl sonrasında 40 vaka, takip eden on beş yıl boyunca 30 vaka bu sayıya ilave olmuştur. 1950-2003 yılları arasında ise septiseminin mortalite oranı yaklaşık 40 kat artarak ölüm nedenleri arasında 10. sıraya tırmanmıştır (3).

ABD’de her yıl yaklaşık 750.000 dolaşım sistemi enfeksiyonu bildirilmekte ve 200.000’den fazla ölüme neden olmaktadır Bu sayı miyokard enfarktüsü, inme ya da kanser ölümlerinden fazladır. Bakteriyemik hastalarda septik şok insidansı etkenin patojenitesi, konağın bağışıklık sistemi, eşlik eden hastalık varlığı ve bakteriyemi kaynağına bağlı olarak %10-30 oranında değişmektedir. Bakteriyemide şok olmaksızın mortalite, bakteriyemi kaynağına göre %10-20 arasındadır. Bakteriyeminin seyrini etkileyen faktörler; ileri yaş, polimikrobiyal etiyoloji, hastada kanser, AIDS, renal yetmezlik varlığı, respiratuvar sistem ya da bağırsak kaynaklı bakteriyemi, kaynağın belirlenememesi ve uygunsuz antimikrobiyal tedavidir (3).

2.5. Risk Faktörleri

Bakteriyemilerde insidans artış nedenleri; immün yetmezlik, invaziv prosedür uygulamaları, hasta yaşı, tedavi yöntemleri olarak sıralanabilir (3, 14). Bakteriyemi, özellikle hematolojik malignensisi olan, bağışıklığı baskılayıcı kemoterapi alan ve kemik iliği transplantasyonu geçiren hastalarda siktir. Bunun

nedeni, azalmış nötrofil sirkülasyonu, kemoterapiye bağlı gastrointestinal mukoza özelliğinde bozulmayı takiben normal floranın kan dolaşımına invazyonudur. Diabet, siroz vb. kronik hastalığı olan kişiler ile bağışıklığı baskılayıcı tedavi alanlar (romatoid artritte glukokortikoid alımı gibi) da bakteriyemi gelişimi açısından artmış risk altındadır (2, 3).

2.6. Mikrobiyoloji

Son yıllarda bakteriyemiden sorumlu organizma profilleri değişmiştir. 1960 - 1970'de *E.coli* ve *P. aeruginosa* gibi gram negatif organizmalar bakteriyemide en sık izole edilen etkenler iken; 1980-1990'da çoğu bakteriyemi *S. aureus*, KNS ve *Enterococcus* gibi gram pozitif organizmalar ile oluşmaya başlamıştır.

Son yıllarda kan dolaşımının bakteriyel invazyonuna ek olarak vakalarda *C. albicans* gibi fungal etkenlerin önemleri giderek artmaktadır. Bu mikrobiyolojik değişiklik muhtemelen hastaların sahip olduğu risk faktörlerine bağlıdır. Duyarlı hasta profilinin değişmesi ile bakteriyemiden sorumlu organizmalar da değişmiştir. MRSA bakteriyemisi 1970'lerde nadir görülürken, günümüzde *S.aureus* bakteriyemisi gelişen hastaların %40'ından fazlasında MRSA etkendir (21, 22). Vankomisine dirençli enterokok (VRE) ve genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) sentezleyen gram negatif bakteriler daha sık izole edilmektedir (21, 23, 24). Toplumdan edinilmiş sepsiste sık karşılaşılan etkenler streptokoklar, *Staphylococcus aureus* ve *E.coli* iken, hastaneden edinilmiş sepsiste karşılaşılan etkenler sıklıkla *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*, *E. coli*, *S. aureus* ve enterokoklardır (25).

İmmünizasyon uygulanarak enfeksiyon oluşturma riski azaltılan bazı organizmalar da daha nadir bakteriyemi nedenleri arasına girmiştir. Mesela, daha önceden çocuklarda bakteriyemi ve sepsisin major nedeni olan *H. Influenzae* tip b ve *S. pneumoniae* ile oluşan enfeksiyonların insidansı, aşı kullanımı ile %95 azalmıştır (3).

Bakteriyemi mikrobiyolojisi üzerine yapılan çalışmalar polimikrobiyal enfeksiyonların insidansının arttığını göstermektedir. 1930'larda hemen hemen tüm bakteriyemi vakaları tek bir organizma ile oluşurken 1990'ın başlarında bakteriyemi vakalarının yaklaşık %10'unun birden fazla mikroorganizma ile gerçekleştiği bildirilmiştir (26). Polimikrobiyal bakteriyeminin mortalitesi monomikrobiyal bakteriyemiye göre daha yüksektir. Polimikrobiyal bakteriyemi için predispozan

faktörler, intravenöz ilaç kullanımı, yanık ve gastrointestinal sistem kaynaklı faktörlerdir. Özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda, alkolizm, granülositopeni, geniş yanıklar, diyabet, kronik renal yetmezlik ve iskemiye neden olan vasküler yetersizlik gibi durumlarda risk artmaktadır. Polimikrobiyal enfeksiyonların çoğunda *B. fragilis* izole edilmektedir. Bazı antimikrobiyallere *B. fragilis*'in doğal olarak dirençli oluşu bakteriyemi mortalitesinin artışına neden olmaktadır (3).

2.7. Patogenez

Bakteriyemi patogenezi, patojenin giriş yeri ve hastanın bağışıklık sisteminin durumuna bağlıdır. Bakteriyemi genellikle normal cilt ya da mukozal bariyerin bozulması ve kan dolaşımına bakteriyel invazyon ile oluşmaktadır. Bu bozulma travma, yanık ya da iskemi nedeni ile derideki çatlak artışı, viral enfeksiyon vb. ile epitelyal hattın bozulması ya da ameliyat, tanı ve tedavi amaçlı alet yerleştirme gibi iyatrojenik bir durumla oluşabilir. Diğer bir neden de fokal bakteriyel enfeksiyon sırasında oluşan lokal inflamasyon, ödem ve doku yıkımı ile etraftaki vasküler yapıların bozulması ve kan dolaşımı invazyonu ile bakteriyemi gelişmesidir.

Bakteriyemi gelişimini takiben hastanın bağışıklık sistemi antikolar aracılığı ile enfeksiyonu kontrol altına almaya çalışır. Antikolar mikroorganizmaları opsonize eder ve fagositler ile beraber kompleman aracılı öldürmeyi tetikler. Bunlara ek olarak lenfatikler, böbrekler ve dalaktaki geniş vasküler yataklardaki süzme mekanizmaları organizmaları tutabilir. Eğer bu savunma mekanizmaları başarısız olursa iki ana komplikasyon olan metastatik enfeksiyon ve/veya septik şok oluşur. Kan dolaşımının invazyonu organizmaların bütün vücuda yayılması ile sonuçlanabilir. Örneğin, *S.pneumoniae* bakteriyemisi pnömokok menenjitine, *S.aureus* bakteriyemisi metastatik enfeksiyon ya da abse gelişimine, endokardit, osteomyelit, septik artrit, hepatic abse ya da piyomyozite neden olabilir (21, 27).

Sepsis ve septik şok bakteriyeminin diğer bir olası sonucudur. Gram negatif bakteriler gram pozitif bakterilere göre daha sık septik şoka neden olsa da her iki grubun da sepsis, ciddi sepsis, septik şok ve ölüm riskleri benzerdir. Her iki durumda da bakteriyel hücre duvarı komponentlerinin (gram negatiflerde hücre duvarı lipopolisakaritleri [LPS], gram pozitiflerde lipoteikoik asit ve peptidoglikan) makrofajlarla etkileşimi, TNF, IL-1, IL-6 ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin

salınımına neden olur. Sonuçta endotelial aktivasyon; vasküler permeabilite, kan akımı ve nötrofil göçünde artış gerçekleşir. Bu cevaplar enfeksiyonun kontrolünü sağlar ve antiinflamatuvar medyatörler yıkıcı sistemik inflamatuvar reaksiyonu önler. Sepsis ve septik şokta bu regülasyonda ortaya çıkan dengesizlik, mikrovasküler anormallik ve endotel hasarına neden olur. Sırasıyla, azalmış doku perfüzyonu, komplemen aktivasyonu ve çoklu organ yetmezliği ve septik şok ve ölümlerle sonuçlanan yaygın damar içi pıhtılaşması (DİK) gelişir (3).

2.8. Dolaşım Sistemi Enfeksiyonu Tipleri

En sık bakteriyemi ve sepsis gelişimine neden olan odaklar, enfekte intravenöz kateterler, üriner sistem, akciğer ve gastrointestinal sistemdir (3).

Dolaşım sistemi enfeksiyonları iki ana kategori altında incelenir:

- İnvasküler (Kardiyovasküler sistemden köken alır)
- Ekstravasküler (Diğer enfeksiyon bölgelerinden lenfatik sistem aracılığıyla kan dolaşımına geçen bakteriler ile oluşur) (14, 28).

2.8.1. İnvasküler Enfeksiyonlar

İnvasküler enfeksiyonlar, enfektif endokardit, mikotik anevrizma, süpüratif tromboflebit ve invasküler kateter ilişkili bakteriyemileri kapsar. Bu enfeksiyonlarda vasküler sistem içinde organizmalar kan akımında sürekli bulunurlar (11,14).

Enfektif Endokardit

Endokardit ile ilişkili organizmalar yaygın olarak viridans streptokok, *S. aureus* ve protez kalp kapaklarında koagülaz negatif stafilokoklardır (2, 3, 14). *Streptococcus sanguis* ve *Streptococcus mutans* en sık izole edilen streptokokal endokardit nedenleridir (14). Artan oranda invasküler kateter kullanımı sonucu vasküler protezler ile *S. epidermidis* ve diğer KNS'ler deriden kan akımına ulaşarak kalp kapağı ve vasküler endoteliumda çoğalırlar (14).

Semptomları olan bazı vakalarda etyolojik ajanı elde etmek zor ya da mümkün değildir (kültür negatif endokardit). *Chlamydia pneumoniae*, *Coxiella*

burneti ve *Bartonella* türleri gibi bazı mikroorganizmaların geleneksel kan kültür teknikleri ile elde edilememesi bunun nedeni olabilir (2, 29).

Mikotik Anevrizma ve Süpüratif Tromboflebit

Bu iki intravenöz enfeksiyon, damar duvarındaki hasarlanmış endotelial hücrelerden kaynaklanır. Süpüratif endokardit, hospitalize hastalarda artmış intravenöz kateter kullanımının komplikasyonu olarak gösterilmektedir (14).

Kateter İlişkili Dolaşım Sistemi Enfeksiyonları

Kateterler giriş yerine komşu olan dokuda kolonize olan bakteriler için giriş noktası ya da mikrobiyal mikrokolonileri barındıran yabancı bir cisim görevi yapabilir (2). En yaygın etyolojik ajanlar ciltte bulunan organizmalardır (2, 14). Kateter ilişkili dolaşım sistemi enfeksiyonları tüm semptomatik bakteriyemilerin %19'udur (3,20). İnfüzyon ilişkili bakteriyemiler *P. aeruginosa* ve *E. cloacae* gibi gram negatif organizmalar ile oluşur (2, 3).

2.8.2. Ekstravasküler Enfeksiyonlar

Lenfatik sistem, bakterilerin dolaşım sistemine girmelerinde kullandıkları bir başka yoldur. Klinik olarak önemli bakteriyemi vakalarının birçoğu ekstravasküler enfeksiyon sonucu oluşmaktadır. Organizmalar akciğer gibi lokal enfeksiyon yerinde çoğalmaya başlayınca lenfatikler ile drene olabilir ve kan akımına ulaşabilirler. Genellikle kan akımı içindeki organizmalar karaciğer, dalak ve kemik iliğindeki retikuloendotelial sistem (RES) ve dolaşımdaki fagositik hücreler tarafından etkili ve hızlı bir şekilde ortadan kaldırılır. Fakat enfeksiyon lokal olarak kontrol altında tutulamazsa mikroorganizmalar dolaşıma yayılır ve bakteriyemi ve fungemiye neden olurlar. Bakteriyemi için en sık giriş bölgeleri genitoüriner sistem (%25), solunum sistemi (%20), abseler (%10), cerrahi yaralar (%5), safra sistemidir (%5) (14, 20).

Ekstravasküler kökenli bakteriyemi oluşma olasılığı; enfeksiyonun yerine, şiddetine ve etken organizmaya bağlıdır. Lokalize enfeksiyon yerinden kan akımına sıklıkla hücum eden organizmalar, *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri, *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *Neisseria gonorrhoeae*, anaerobik koklar, *Bacteriodes*, *Clostridium*, beta hemolitik streptokok ve *Pseudomonas* türleridir (14).

2.9. Bakteriyemi ve Sepsiste Tanı

Kan Kültür Sistemleri

Mikrobiyoloji laboratuvarının en önemli görevlerinden biri kan kaynaklı patojenlerin tespiti ve identifikasyonudur (30, 31). Laboratuvarın bu konudaki başarısı klinisyenin başarısını ve hastanın bir an önce iyileşmesini sağlayarak, hastanede yatma süresini kısaltacak ve tedavi ve bakım masraflarını azaltacaktır (32).

Kan kültürü, bakteriyemi ve fungemi tespitinde altın standart tanı yöntemidir. (11, 26). Kan kültürleri ortalama olarak kanda 1 kob/ml bakteri ve mantarı tespit edebilme yeteneğine sahip en duyarlı yöntem olarak kabul edilir. Dezavantajları; işlemlerin tamamlanmasının 1-5 gün sürmesi ve pozitif sonuç alınması için kan örneğinin en az 8 saat inkübasyonununun gerekmesi ve yalancı negatif sonuç alma olasılığıdır (33).

Dolaşım sistemi enfeksiyonlarında kan kültürü pozitifliği kültürü yapılabilen mikroorganizmalarla sınırlıdır. Yavaş üreyen mikroorganizmalar ve bazı zor üreyen bakterilerde, önceden antimikrobiyal tedavi alanlarda, bakteriyel ve mantar yükü düşük olduğunda kan kültürlerinin duyarlılığı düşer (34).

Kan kültürünün üç ana amacı vardır. Bunlar,

1. Enfeksiyöz etiyolojiyi doğrulamak
2. Etkeni tanımlamak
3. Antibiyotik tedavisini yönlendirmek olarak sayılabilir (35).

Son 20 yılda mikroorganizmaların saptanma ve tanımlanmasında geleneksel kan kültür şişelerine dayalı yöntemlerden uzaklaşmış, otomatize sistemlerin kullanımına doğru bir yönelim görülmüştür. Kan kültürlerinde otomasyon ilk kez 1970'li yılların başında yarı otomatik kan kültürü cihazlarının kullanımı ile başlamıştır. Otomasyon eğilimi sürekli monitorize kan kültürü sistemlerinin kullanılmaya başlaması ile hız kazanmıştır. Bu cihazlardaki gelişmeler, veri tabanlarının genişlemesi, tanı koyma zamanını azaltan teknolojilerin uygulanması ve laboratuvarlarda verilerin yorumu, saklanması ve yönetilmesini sağlayan yazılımlarındaki önemli ilerlemeleri içermektedir. 1990 yıllarında otomatik sürekli monitorize kan kültürü sistemlerinin geliştirilmesi, geleneksel manuel yöntemlerden uzaklaşma eğilimini hızlandırmıştır (32).

Sürekli monitorize kan kültür sistemlerinin avantajları:

Laboratuvarda iş gücünü azaltır. (çünkü sadece pozitif kültür olduğu zaman teknisyenin çalışmasını gerektirir).

Yanlış pozitif sonuç ve psödobakteriyemileri azaltır.

Tespit hızını ve mikroorganizma tespit oranını artırır (37).

Dezavantajları:

Bazı sistemler için kısıtlı veri tabanı olması,

Sınırlı besiyeri olanakları,

Büyük cihazlar olması ve buna bağlı laboratuvar da yer sorunu yaşanması ve

Pahalı olmalarıdır (25).

2.9.1. Kan Kültürü Alım Endikasyonları

Dolaşım sistemi enfeksiyonları, hastaya en üst düzeyde yararlı olunabilmesi için laboratuvar ve klinik bulguların birlikte değerlendirilmesinin en fazla gerekli olduğu enfeksiyonlardan birisidir (37).

Kan kültürü alımı için standardize edilmiş endikasyonlar bulunmamaktadır. Ateş, kan kültürü alınmasının en sık nedenidir. Üşüme, taşikardi, takipne gibi kanda mikroorganizma varlığını düşündüren klinik durumlarda, açıklanamayan ateş ve hipotansiyon olduğunda ve nötropeni sırasında ateş ortaya çıkarsa kan kültürü alınmaktadır (37).

2.9.2. Kan Kültürü Alım Tekniği

Kültür için kan örneği, hekimler, tıbbi teknolojistler, eğitilmiş flebotomistler, hemşireler ve diğer sağlık personeli tarafından alınmalıdır. Kan kültürü alımında mutlaka steril eldiven giyilmelidir. Kan alımında ilk girişim başarısız olmuşsa yeni bir enjektör kullanılmalıdır. Kan periferel venlerden venöz ponksiyon yoluyla alınabilir. Venöz ponksiyondan önce, kan kültür şişesinin kauçuk başlığı %70 alkolle dezenfekte edilmelidir. İyot kauçuğun yapısını bozacağından tercih edilmemelidir. Venöz ponksiyon için uygun bölge seçildikten sonra, turnike uygulanmalı ve ven palpe edilmeli, %70'lik alkolle deri temizlenmeli, kuruduktan sonra merkezden periferik doğru %10'luk povidon iyodin veya %1-2'lik iyot uygulanmalıdır. Sonra

tekrar alkolle merkezden perifere doğru silinerek iyot uzaklaştırılmalıdır. Kan alan kişi dezenfeksiyondan sonra cildi tekrar palpe etmemelidir.

Kan birçok değişik yolla alınabilir. Tercih edilen yöntem fazla volüm alan enjektörlerle kan almaktır. Birçok flebotomist enjektörle birlikte kelebek kullanmayı tercih etmektedir. Fakat bu yöntem pıhtılaşmayı artırmaktadır. Kan kültür şişelerine direkt kan alımı önerilmemektedir. Çünkü kan kültür şişelerindeki vakum önerilen kan volümünden daha fazlasının kan kültür şişesine aspire edilmesine neden olur. İstenilen miktarda kan alındıktan sonra iğne damardan çekilmeli ve şişeye inoküle edilmelidir. Pıhtılaşmayı önlemek için inoküle edilen şişeler birkaç dakika yavaşça çalkalanmalıdır (25, 37, 38).

Kontaminasyonu azaltmak için cilt temizliğinde kullanılan maddeye bakılmaksızın titiz bakım ve aseptik tekniklerin kullanılması gereklidir. Ayrıca periferik kandan alınan kan örneklerinde, kataterden alınan kan örneklerine göre kontaminasyona neden olan mikroorganizmaların üreme olasılığı daha düşüktür (25). Yetersiz cilt antiseptisi ile ilişkili olarak kan kültür kontaminasyonundan sorumlu organizmalar, KNS, *Corynebacterium spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Bacillus anthracis* dışındaki *Bacillus spp.*, *Micrococcus spp.* ve viridans streptokoklardır (25). Kan kültürünün güvenilir sonuç vermesi için dikkat edilecek hususlar şunlardır:

- Kan kültür şişeleri kullanılmadan önce hasar ya da renk değişikliği açısından kontrol edilmelidir.
- Şişelerin son kullanım tarihleri kontrol edilmeli, günü geçmiş şişeler kullanılmamalıdır.
- Kan kültür setleri farklı anatomik bölgelerden alınmalıdır.
- Kültür için kan venlerden alınmalı, yüksek kontaminasyon riski olan arteriyel ya da venöz kateterlerden kan alınmasından kaçınılmalıdır.
- Örnek alınmadan önce cilt dezenfekte edilmelidir.
- Alınan örnekler bekletilmeden hızla, tercihen iki saat içinde, laboratuvara gönderilmeli, eğer bekletilecekse oda sıcaklığında saklanmalıdır.
- Tüm kan kültür şişelerine hastanın adı, soyadı, alım tarihi, saat, alınan yer yazılmalıdır (35).

2.9.3. Kan Kültürü Sonuçlarını Etkileyen Değişkenler

Kan Kültürü Miktarı

Şişeye inoküle edilen kan miktarı dolaşım sistemi enfeksiyonlarının saptanmasını etkileyen en önemli faktörlerden biridir (14). Erişkinlerdeki dolaşım sistemi enfeksiyonlarının, her 10 ml'lik kanda 1 mikroorganizma ile ortaya çıkabileceği kanıtlanmıştır. Kan kültürünün tanısal etkinliği ile kültür için alınan kan miktarı arasında doğrudan bir ilişki vardır (39). Kurallar çerçevesinde yetişkinlerden her kültür için 20 -30 ml kan alınması önerilmektedir (40).

Çok sayıda çalışma geleneksel kan kültürünün tanısal değeri ile kan örneği miktarı arasında direkt 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 olarak aerop ve anaerop şişelere eşit dağıtılıp tek kültür olarak kabul edilmiştir. Buna göre örnek miktarı 10 ml'den başlayarak 40 ml'ye kadar arttırılmış ve 20 ml örneğin 10 ml'ye göre %30; 30 ml örneğin 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 önerilmektedir (39).

Bebeklerde ve küçük çocuklarda dolaşım sistemi enfeksiyonlarının saptanması için kan miktarının önemi son yıllarda belirgin hale gelmiştir. Saptama oranı bir çalışmada 6 ml kanda 2 ml kandakinin iki katı olarak saptanmıştır (41).

Çocuklarda düşük düzey bakteriyemi olduğu tespit edilmiş ve bu hasta grubunda dolaşım sistemi enfeksiyonunun tespiti için çocuktaki kan miktarının %4-4,5'unun alınmasının gerektiği önerilmiştir (14). Ancak küçük ve prematüre bebeklerde bu miktarı almak mümkün olmayabilir. İnfantlar ve küçük çocuklardan kültür için genellikle 1-5 ml kan alınması önerilmektedir (17).

Besiyeri

Kan kültürleri için en çok kullanılan besiyeri soya fasulyesi kazein buyyondur (soybean casein digest broth). Mayalar ve bazı bakterilerin saptanması için beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri de eşdeğer ya da daha üstündür (14, 32).

Kan Besiyeri Oranı

İnsan kanı içinde bulunan lökositler, kompleman ve lizozim gibi birçok madde mikrobiyal üremeyi inhibe edebilir. Kan örneği alındığı sırada antimikrobiyal tedavi altında olunması da üremeyi etkiler. Kanın sıvı besiyerine oranının en az 1:5 olmasının, muhtemelen doğal inhibitör madde konsantrasyonunu azaltarak ve antimikrobiyal ajanları subinhibitör düzeyine düşürerek teşhisi kolaylaştırdığı gösterilmiştir (14, 32, 37).

Reçine içeren bazı ticari besiyerleri 1:5 oranından daha az kan:sıvı besiyeri oranına ihtiyaç duyabilir. Bazı firmalar küçük çocuklardan az miktarda kan alınabileceğini göz önünde bulundurarak, 1:5'ten 1:10'a kadar oranlarda kan:sıvı besiyeri oranını sağlamak için, az miktarda sıvı besiyeri ile yapılmış pediatrik kan kültürü şişelerini piyasaya sürmüşlerdir.

Bu şişelerdeki sıvı besiyerleri *H. influenzae*'nin üremesini arttırmak için X ve V faktörleri ile desteklenmiş ve *Neisseria* türlerinin daha iyi saptanması için sodyum polianetol sülfonat (SPS) konsantrasyonları azaltılmıştır. Bu şişeler popüler hale gelmesine rağmen bunların konvansiyonel kan kültürü şişelerine göre daha fazla üreme sağladıkları ya da mikroorganizmaları daha erken saptadıklarına dair az sayıda veri bulunmaktadır (32).

Antikoagülanlar

Kan kültüründeki üreme kan pıhtılaşması ile azalabilir. Bu nedenle bütün sıvı besiyeri bazlı kan kültürü besiyerleri antikoagülan içerir. Heparin, EDTA ve sitratın antikoagülan olarak kullanımı tavsiye edilmez. Çünkü bazı mikroorganizmaların üremesini engellerler. %0,025-0,05 konsantrasyonundaki SPS en sık kullanılan antikoagülan maddedir (2, 14, 32).

Pıhtılaşmanın inhibe edilmesine ek olarak SPS lizozimi inhibe eder, aminoglikozid antibiyotikleri inaktive eder. Fibrinojen, β -lipoprotein, β 1-C globulinve diğer serum komponentlerini presipite eder. Kompleman kaskadı ve fagositozu inhibe eder. SPS'nin bazı olumsuz özellikleri de vardır. *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptobacillus moniliformis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Francisella tularensis* ve *Moraxella catarrhalis*'in üremesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Besiyerine %1 jelatin eklenmesi SPS'nin bu inhibitör etkilerini engeller (2, 14, 32, 42).Genel olarak yüksek konsantrasyonda SPS gram pozitif kokların üremesini arttırmış, fakat gram negatif bakterilerin üremesini inhibe etmiştir (32).

Antimikrobiyallerin Nötralizasyon ve İnaktivasyonu

Birçok hasta, kan örnekleri alınmadan önce antimikrobiyallerle tedavi edildiğinden ve bu durum da test duyarlılığını azaltacağından, bazı üreticiler bu ajanları bağlayan, absorbe eden ya da bu maddeleri inaktive eden kimyasallar içeren besiyerleri tasarlamışlardır. Bazı besiyeri içerikleri antimikrobiyal ajanları bağlamak veya absorbe etmek için yapılmış katkı maddeleri içermekte, böylece mikroorganizmaların üremesini arttırmaktadır (43, 44).

BACTEC kan kültürü sistemi (BD Diagnostics, ABD) küçük cam boncuklar üzerinde antibiyotik bağlayıcı reçine kullanırken, BacT/Alert kan kültürü sistemi (BioMerieux Inc., Fransa) aktif kömür tozu kullanmaktadır. Her iki sistemde de bu katkı maddelerini içeren kültür ortamı, katkı maddesi içermeyen ortama kıyasla özellikle stafilokok ve mayalar gibi çeşitli mikroorganizmaların saptanmasını arttırmış ve antimikrobiyal tedavi alan hastalarda üremeyi arttırmıştır. Öte yandan reçine ve aktif kömür tozu içeren besiyerinde, katkı maddesi içermeyen besiyerine oranla daha fazla koagülaz negatif stafilokok kontaminasyonu saptanabilir (14, 32, 45).

İnkübasyon Atmosferi

Geleneksel kan kültürü seti bir aerobik ve bir anaerobik olmak üzere iki kan kültürü şişesinden oluşmalıdır. Bir tanesi aerob ve fakültatif anaerobik bakterilerin üremesini sağlayacak, diğeri ise fakültatif organizmalar ve aynı zamanda zorunlu

anaerobların da üremesini destekleyecek şekilde tasarlanmıştır (26, 37, 46). Aerobik kan kültürü şişeleri genellikle şişelerin üst boşluğunda çeşitli mikroorganizmaların üremesini desteklemek için belirli miktarlarda karbondioksit ilave edilmiş ortam içerir. Anaerobik kan kültürü şişelerinin üst boşluğunda ise genellikle karbondioksit ve nitrojen bulunurken oksijen bulunmaz (26, 47).

Şişelerin Çalkalanması

Şişenin çalkalanması üremeyi arttırmakta aerobik şişelerdeki pozitifliği hızlandırmaktadır. Ticari olarak bulunan bütün sürekli monitörize kan kültür sistemlerinin şişeleri belirli periyotve sürelerle çalkalanmaktadır (32).

İnkübasyon Süresi

Rutin durumlarda geleneksel kan kültürlerinin 7 günden fazla inkübe edilmesine gerek yoktur. Otomatize kan kültürü sistemleri ile ilgili çalışmalar birçok patojenin saptanmasında 5 günlük inkübasyonun yeterli olduğunu göstermektedir (30, 32, 49). Bazı araştırmacılar, belirli sistem ve besiyerlerinde 3-4 günlük inkübasyon süresinin yeterli olduğunu savunmaktadır (32, 50, 51). Ancak inkübasyonun süresi standart olarak 5 gün olarak kalmıştır. Enfektif endokardit şüphesinde inkübasyonun süresini uzatmak önerilmekteyse de, standart 5 günlük inkübasyon süresi içinde endokardit dışı dolaşım sistemi enfeksiyonlarının %99,5'i ve endokardit epizodlarının tamamı tespit edilebilmiştir (32).

Candida türlerinin saptanmasında da inkübasyon süresinin arttırılmasına gerek olmadığı görülmüştür. Ancak *Candida glabrata* ve *Cryptococcus neoformans* için yayınlanmış veriler yeterli değildir (32).

Kültür Seti Sayısı

Kültür için alınan 20 ml kanın kullanıldığı geleneksel kan kültür sistemleri ve sürekli monitorize kan kültür sistemleri ile yapılan çalışmalarda, yetişkinlerde iki ya da üç kan kültür seti ile dolaşım sistemi enfeksiyonlarının saptanacağı gösterilmiştir (2, 14, 52, 53). Tek kan kültür seti alınmasının önüne geçilmelidir. Tek örnek için alınan kan, bazı enfeksiyonların teşhisi için yetersiz olacaktır (53).

20 ml kan alınarak oluşturulan üç set ile bakteriyemilerin %99'u, iki set ile bakteriyemilerin %88'i, bir set ile bakteriyemilerin %80'i tespit edilebilmektedir (52, 53). Genelde çoğu laboratuvar her set için iki kan kültür şişesini kullanmaktadır. Ancak üç kan kültür şişesinden oluşan iki set patojenlerin tespit edilmesini daha da arttırır (53).

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) klavuzuna göre iki kan kültür şişesinden oluşan iki set ile bakteriyemilerin %90-95'i, iki kan kültür şişesinden oluşan üç set ile bakteriyemilerin %95-99'u tespit edilebilir (44). KNS, viridans grup streptokok veya difteroidlerin tek kan kültüründe üremesi genelde kontaminasyonu düşündürür. Fakat bazen bu durum klinik olarak önemli enfeksiyonları da işaret edebilir. Bu gibi durumlarda pozitif sonucu yorumlamak zordur (9, 32). Antibiyotik tedavisi alan hastalarda, her biri 16-20 ml kan alınarak oluşturulan üç şişeden oluşan iki kan kültür seti veya ikinci gün iki set kültür alınması etiyolojik ajanların tespitini sağlar (14, 53).

İki ya da üç set kültür alınmış ancak 24 saat inkübasyon sonrası kültürler hala negatifse ve hasta hâlâ septik ise 2-3 ilave kültür seti alınabilir (52). Subakut bakteriyel endokardit durumunda üç kültür seti alınıp sonuç negatif olursa ertesi gün tekrar iki ya da üç set kültür alınması organizma tespit oranını arttırır (37, 44).

Her septik epizodda rutin olarak üç setten fazla kan kültürü alınması kontaminant ve klinik olarak önemli izolatlar arasında ayırım yapmaya yardım etmemektedir. Bundan dolayı 24 saat içerisinde rutin olarak üç kan kültüründen fazla kültür alınması pozitif sonuçlarda anlamlı bir artışa sebep olmamakta, maliyeti ve laboratuvarın iş yükünü arttırmakta ve hastada (flebotomi nedeniyle neden olmaktadır (2, 37, 54).

Kan Kültürlerinin Alınma Zamanı ve Toplam Kan Hacmi

Kan alınma zamanı diğer faktörler kadar önemli değildir. Çünkü organizmaların çoğu kana sürekli ve sabit oranda bırakılırlar. Kan örneklerinin tümünün aynı anda alınması ya da aralıklarla alınması arasında fark saptanamamıştır (14, 43, 52). Bakteriyemiler üşüme titreme ile ilişkilendirilmiş olsa da genellikle bakteriyemi ateşten önce oluşur ve kan kültürü alma isteğini başlatan ise ateştir. Ancak mikroorganizmalar ateş yükselmeden 30-60 dakika önce kanda en fazla

buldukları için en iyi kan alınma zamanı üşüme titremelerin başladığı ateşin ortaya çıkmasından önceki zamandır (55, 56). Bazı araştırmacılar kültür için kan alınmasının birbirini izleyen aralıklarla yapılmasını önermişlerse de bazı çalışmalarda belirli aralıklarla alınan kan örneklerinde üreme açısından bir fark olmadığı gösterilmiştir (32, 37, 43).

Kan alma zamanına hastanın klinik durumu ve olası tanıya göre karar verilmelidir. Sepsiste ve genel durumu stabil olmayan bir hastada tedavinin başlayabilmesi için kan kültürünün hemen alınması gerekir. Stabil olan bir hastada subakut enfektif endokarditten şüphelenilirse aralıklı olarak birden çok kan örneği alınabilir (32). Araştırmacılar organizma tespiti için kan alınma zamanının değil toplam hacmin önemli olduğu sonucuna varmışlardır (2, 9, 14). Alınan kan hacmi arttıkça bakteriyemi tespit şansı artmaktadır (53, 54). Alınan fazladan her bir ml kan için bakteriyemi tespit şansı %3-5 artmaktadır (54). Kan miktarının az olması yalancı negatif sonuçlar alınmasına neden olabilir (9). Antibiyotik tedavisi verilen hastalarda kan kültürü bir sonraki dozdan hemen önce alınmalıdır (37).

Kan kültürlerinin tekrarlanma standartlarıyla ilgili rehberler yoktur. İlk kültür sonuçlarına göre, tekrarlanmış kültür sonuçlarının analizi yapıldığında, kontaminant veya negatif kültürü olan hastaların tekrar kültürlerinin pozitif olmadığı görülmüştür (57). Ayrıca ilk kültürleri pozitif olan pek çok hastada da tekrar kültürlerinde aynı patojenlerin izole edildiği saptanmıştır. Bir görüş birliğine varıp onaylanıncaya kadar tekrar kültürlerinin şu kriterlere bağlı olarak alınması önerilmiştir:

1. Yeni septik epizod
2. Şüpheli endokardit
3. *S. aureus* bakteriyemisi, kandidemi ve gram negatif basillerin sebep olduğu bakteriyemilerde kan kültür pozitifliğinin izlenmesi
4. *S. aureus*, *Enterococcus* spp., gram negatif basil veya diğer güç tedavi edilen mikroorganizmaların sebep olduğu endokardit veya diğer endovasküler enfeksiyonlarda tedaviye cevabın takibi
5. İntravasküler kateter ilişkili bakteriyeminin tanısını doğrulamak (57).

Tekrar kültürlerinin alınmasının gereksiz olduğu durumlar ise

1. Yeni bulgular olmadan devam eden ateş
2. Enfeksiyöz olmayan etiyojolojiye dayandırılan yeni bir ateş

3. Sepsisi destekleyen klinik bulgular olmaksızın lökositoz
4. Sistemik bulgular ve semptomlar olmaksızın kolonizasyon veya fokal enfeksiyonlardır (57, 37).

2.9.4. Kan Kültürü Sistemleri

Manuel Sistemler

Ticari olarak üç manuel kan kültürü sistemi bulunmaktadır.

1. Septi-Chek (BD Diagnostics, ABD)
2. Oxoid Signal (Remel Inc., İngiltere)
3. Isolator (Wampole laboratuvarları, ABD)

Septi-Chek Sistemi (BD Diagnostics, ABD)

Geleneksel kan kültürlerine iş yükü azaltıcı bir alternatif olarak geliştirilmiştir ve pasajların manuel olarak yapılması gereklidir. Şeffaf plastik silindirik içindeki agar kaplanmış raketin geleneksel sıvı besiyeri içeren kültür şişesine tutturulması sonucunda klasik Castenada şişelerine benzer iki fazlı sistemden meydana gelir (Resim 2.1)

Kan,şişenin içine inoküle edildikten sonra,agar raketi tutturulur ve kan-sıvı besiyeri karışımı,bulunabilecek mikroorganizmalar için agarın üstüne ters çevrilerek dökülür. Şişeler çalkalamalı ya da çalkalamasız inkübe edilir ve makroskopik olarak günde bir ya da iki kez mikrobiyal üreme varlığı incelenir. Birçok farklı Septi-Chek sıvı besiyeri içeriği vardır. Agar bölmesi, çikolata agar, MacConkey agar ve malt agar olarak üç agar içerir (2, 32). Mantar ve mikobakteriler için de özel agarlar eklenebilir. Şişeyi açmadan ya da iğne kullanmadan pasaj yapılmasını sağlar. Septi-Chek sistemi *S. pneumoniae*'nin tespitini artırır (14).



Resim 2.1 Septi-Chek sistemi iki fazlı kan kültür şişeleri

Oxoid Signal (Remel Inc., İngiltere)

Tek şişede manuel kan kültür sistemidir ve geleneksel kan kültürlerine iş yükü azaltıcı bir alternatif olarak geliştirilmiştir. Kan, geleneksel şekilde şişenin içine inoküle edildikten sonra, şişenin üzerine şeffaf plastik sinyal ünitesi bağlanır. Şişenin boynunun üzerinden kayan bir üst plastik kol, bu sinyal ünitesine sıkıca tutunur. Ünitenin içinde bulunan uzun iğne, kan-sıvı besiyeri karışım düzeyinin altına uzanır (Resim 2.2).

Eğer şişenin içinde mikrobiyal üreme gerçekleşirse oluşan karbondioksit şişenin üst boşluğunda toplanır. Bu atmosfer basıncını arttırarak kan-sıvı besiyeri karışımını iğnenin içinden şeffaf plastik sinyal silindirin içine doğru iter ve günlük olarak şişeleri inceleyen mikrobiyoloji uzmanı tarafından gözle belirlenebilir. Sadece bir besiyeri içeriği piyasaya sürülmüştür. Bu sistemle yalancı pozitif sonuç sıklığı yüksekti (32).



Resim 2.2 Oxoid Signal kan kültür sistemi şişesi

Isolator Kan Kültürü Sistemi (Lizis Santrifügasyon Sistemi) (Wampole laboratuvarları, ABD)

Kültür ortamı olarak sıvı besiyeri kullanmayan tek ticari sistemdir. Bu sistem lizis santrifügasyon prensibine dayanır. Kan, kan hücrelerini eritici solüsyon olarak saponin, köpürmeyi engelleyen polipropilen glikol, antikoagülan olarak SPS, koagülasyon ve kompleman kaskadını inhibe etmeyi sağlayan kalsiyum iyon şelasyonu için EDTA ve kan işlenmesindeki santrifüj basamağı esnasında tampon görevi gören florokarbon içeren isolator tüpe inoküle edilir (2, 14, 32). Kan lize ve santrifüj edildikten sonra, tüp isostat sisteminin içine yerleştirilir. Bu sistemde tüpün içeriğine geçiş sağlayan atılabilir lastik kapak bulunmaktadır. Tek kullanımlık süpernatant pipet, süpernatantın atılması için konsantre pipet ise saptanması istenen patojenlerin üremesini sağlamak amacıyla sedimentin tüpten kültür ortamına direk olarak aktarılması için kullanılır (Resim 2.3) (32).

Isolator sık rastlanan bakteriyel patojenlerin saptanması için kullanılabilir. Ancak örneklerin 8 saat içinde hazırlanmaması durumunda anaeroblar, *Haemophilus* türleri, *Listeria monocytogenes* ve pnömokokların saptanmasında sistemin duyarlılığının azaldığı tespit edilmiştir (14).

Mayaların, dimorfik mantarların, mikobakterilerin ve *Bartonella* türlerinin saptanmasında iyi bir sistemdir (32, 48). *S. pneumoniae*, diğer streptokoklar, *Pseudomonas aeruginosa* ve anaerob bakteri izolasyonunda diğer sistemler kadar iyi değildir (32, 48).



Resim 2.3 Isolator kan kültürü sistemi

Sürekli Monitorize Otomatik Kan Kültür Sistemleri

Ticari olarak elde edilebilen bütün sürekli monitorize kan kültür sistemlerinin birçok ortak özelliği vardır (32). Manuel ve ilk otomatik sistemlerde olduğu gibi bu sistemler aynı zamanda peritoneal sıvı gibi diğer steril vücut sıvılarında mikroorganizmaların varlığını saptamak için de kullanılmıştır (14).

Sürekli monitörize kan kültür sistemleri:

1. BacT/Alert sistemi (BioMerieux Inc, Fransa)
2. BACTEC sistemi (BD Diagnostics, ABD)
3. Versa-TREK sistemi (Thermo Scientific, ABD)

BacT/Alert Sistemi (BioMerieux Inc., Fransa)

İlk sürekli monitörize kan kültür sistemidir ve ilk kez 1990 yılında piyasaya sürülmüştür. Sistem 1999 yılında orijinalinden daha az yer kaplayan ve kolaylaştıran dokunmatik ekranlı bilgisayar ile BacT/Alert 3D olarak yenilenmiştir (Resim 2.4). Her inkübatör modülü 120 ya da 240 kültür şişelik bir kapasiteye sahiptir (2, 32). Her şişenin alt kısmında, kan-sıvı besiyeri karışımından şişenin içindeki karbondioksit miktarını gösteren karbondioksite-yarıgeçirgen membran ile ayrılmış kolorimetrik karbondioksit sensörü bulunur (31, 32, 58). İnkübatör ünitesinde, her şişenin

konulduğu ünitenin altında ışık veren ve ışık algılayan diyotlar vardır (32). Bölmelere şişeler alt kısmı aşağıda olacak şekilde yerleştirilir ve her bölme inkübatör, çalkalayıcı ve dedektör olarak görev yapar. Her bölme horizontal rafları olan iki diziden oluşur ve yavaş şekilde ileri geri sallanır. Sensör tarafından. 10 dk aralarla renk değişikliği ölçülür (2, 31). Mikroorganizma üremesi ve metabolizma sonucu karbondioksit oluşması, yansıyan ışık miktarını değiştirir, şişenin algılayıcısı renk değiştirir. Oluşan karbondioksitin erimesi ile serbest hidrojen iyonu oluşur. Serbest hidrojen iyonu sensörde renk değişikliği yapar (mavi-yeşil-sarı). Yansıtmadaki değişiklik cihaz tarafından ölçülür. Bilgi cihazın bilgisayarına aktarılır. Sistemin aerob ve anaerob standart şişeleri ve aktif kömür tozu içeren aerob ve anaerob şişeleri mevcuttur (Resim 2.5) (14, 31).

BacT/Alert sistemi, elde edilen sonuç ve mikroorganizmaların tanısındaki hız açısından diğer ticari sürekli monitorize kan kültür sistemlerine benzer performans göstermektedir (Resim 2.4) (46, 59, 60).



Resim 2.4 BacT/Alert 3D kan kültür sistemi



Resim 2.5 BacT/Alert kan kültür plastik şişeleri

BACTEC 9000 (BD Diagnostics, ABD)

Sistemin 50, 120 ve 240 şişe kapasiteli 3 cihazı mevcuttur (32, 61). BACTEC sistemi BacT/Alert sistemine benzer şekilde her kültür şişesinin dibinde bir karbondioksit algılayıcısı içermektedir. Fakat BacT/Alert'ten farklı olarak BACTEC sistemi mikroorganizmaların üremesini saptamak için floresan duyarlı bir mekanizma kullanmaktadır (14, 32, 39, 62). Karbondioksit membran sadece karbondioksite geçirgendir. İyon, besiyeri içeriği ve kana geçirgen değildir (63). Karbondioksit miktarı arttığında, buna bağlı olarak floresanstaki artış cihaz tarafından saptanmaktadır (32, 63). Oluşan karbondioksit sensör içine difüze olunca çözünür ve hidrojen iyonu oluşur. Hidrojen iyonu pH'yı azaltır ve sensörden floresans artışına neden olur (14, 63). Buradaki ana tanımlama kriteri, floresans miktarındaki artmadır (32). Bu sistemde de şişeler 10 dakikada bir monitorize edilir (Resim 2.6) (2, 32).



Resim 2.6 BACTEC kan kültür sistemi

BACTEC sistemi birçok besiyeri içeriğine sahiptir.

1- 40 ml soya fasulyesi kazein digest buyyonu içeren standart aerobik ve anaerobik besiyeri

2- 25 ml soya fasulyesi kazein digest buyyon ve antibiyotik bağlayan reçineli cam boncuklar içeren standart aerobik ve anaerobik plus besiyeri

3- 40 ml soya fasulyesi kazein digest buyyonu ve litik madde içeren anaerobik litik besiyeri

4- Çocuk hastalar için geliştirilmiş 40 ml soya fasulyesi kazein digest buyyon ve antibiyotik bağlayan reçineli cam boncuklar içeren reçineli besiyeri

5- Mantar ve mikobakterileri saptamak için geliştirilen fakat aynı zamanda bakteriyel patojenleri de üretebilen Myco/F-Lytic besiyeri (Resim 2.7)

5 ml alan çocuk şişeleri hariç bütün BACTEC şişeleri, 10 ml'ye kadar kan alabilmektedir. Sistem diğer cihazlı sistemler ile hem hassasiyet hem de pozitif kültürlerin belirlenmesindeki hız açısından benzerdir (32).



Resim 2.7 BACTEC kan kültür şişeleri

Versa-TREK (Trek Diagnostic System, Amerika) (ESP Sistemi)

Bu sistemde, şişeler cihaza yerleştirildikten sonra şişenin başlık boşluğunda mikroorganizmalar tarafından üretilen veya tüketilen gazlarda (oksijen, hidrojen, nitrojen ve karbondioksit) oluşan basınç değişiklikleri dönüştürücü ile takip edilir (Resim 2.8) (32, 50). Aerobik (REDOX1) şişeler her 12 dk'da, anaerobik (REDOX2) şişeler her 24 dk'da bir kontrol edilir (Resim 2.9). Basıncın zamana karşı değerleri, üreme eğrileri elde etmek için kullanılır ve pozitif kültürler cihazın algoritmalarına göre belirlenir. Aerobik şişelerdeki kan-buyyon karışımı her şişede

bulunan ufak paslanmaz çelik karıştırma çubuğu ile yapılır. Anaerobik şişeler ise diğer iki sistemde aerobik kültürlerde olduğu şekilde karıştırılır. Versa-TREK sisteminde aerobik şişede temel kültür besiyerine soya kazein-pepton buyyon eklenmiştir ve anaerobik şişede modifiye proteaz-pepton buyyon yer almaktadır (32).



Resim 2.8 Versa-TREK kan kültür sistemi



Resim 2.9 Versa-TREK kan kültür şişeleri

Otomatize kan kültür sistemlerinin üreme saptama yöntemleri, aldıkları şişe sayısı, test döngü sayıları ve çalkalama hızları birbirinden farklıdır. Tablo 2.1’de otomatize sistemlerin bu özellikleri karşılaştırılmıştır.

Tablo 2.1 Ticari olarak mevcut olan sürekli monitörize kan kültür sistemlerinin özellikleri

Sistem	Yöntem	Modül kapasitesi(şişe sayısı)	Test döngüsü (dk)	Çalkalama Tipi / Hızı
BacT/Alert	Karbondioksit,Kolorimetrik	120, 240	10	Sallama/34
BacT/Alert 3D	Karbondioksit,Kolorimetrik	240	10	Sallama/34
BACTEC	Karbondioksit, Floresans	120, 240	10	Sallama/30
BACTEC	Karbondioksit, Floresans	50	10	Devamlı rotasyon
Versa-TREK	Manometrik	96-240, 528	12 aerobik 24 anaerobik	Vorteksleme aerobik
Versa-TREK	Manometrik	528	12 aerobik 24 anaerobik	Vorteksleme aerobik

2.9.5. Kan Kültürü Pozitiflik Zamanı

Kan kültürü sistemi tarafından sağlanan bir parametredir ve inkübasyon zamanından pozitif bir sinyal algılanana kadar geçen süre olarak tanımlanır. Kan kültürlerinin pozitiflik zamanı çeşitli faktörlerden etkilenir; bakteri yükü, mikroorganizma üreme hızı, besiyeri türü, kandaki antibakteriyel madde varlığı, enfeksiyon kaynağı ve klinik durum bunlardan bazılarıdır (14, 32).

Pozitiflik zamanı gram boyama ile birlikte analiz edilerek mikroorganizmanın yanı sıra bakteriyeminin kaynağı hakkında da fikir sahibi olunur. *S.aureus* bakteriyemisinde, kısa kan kültür pozitiflik zamanı enfeksiyonun endovasküler kaynaklı olduğunu düşündürür ve yüksek mortalite ile ilişkilidir (14, 32).

2.9.6. Pozitif Kan Kültürlerinden Yapılan Preparatların İncelenmesi

Bir kan kültüründe üreme belirlendiğinde yapılması gereken en önemli test, Gram boyalı preparat hazırlanması ve incelenmesidir. Eğer kullanılan şişe karbon partikülleri içeriyor ise akridin 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 düşündürecektir. Gram boyamada mikroorganizma görülmediği halde pozitif üreme sinyali alınan kan kültürlerinin akridin oranj boyası ve floresein izotiyosiyanat filtresi kullanılarak incelenmesi, *Mycoplasma*, *Campylobacter*, *Brucella* gibi zayıf boyanan mikroorganizmaları saptamada yararlıdır (64).

2.9.7. Pozitif Kan Kùltürlerinin İlk Pasajları

Mikroskopik inceleme sonuçlarından bağımsız olarak tüm sinyal pozitif kùltürler, katı besiyerlerine pasajlanmalıdır. Pasaj için kullanılan besiyerleri zengin olmalı, bu amaçla en azından %5 koyun kanı içeren triptik soy agar ve çukolata agar kullanılmalıdır. Gram boyama sonuçlarına göre kullanılan besiyerlerine, gram negatif basiller için MacConkey veya EMB agar, mantarlar için mikolojik besiyerleri eklenebilir. Kan kùltürü iyice karıştırıldıktan sonra bu besiyerlerine 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 anaerop şişede olursa veya her iki şişede de görülen mikroorganizmalar anaerobları düşündürürse; vitamin K ve hemin ile zenginleştirilmiş anaerop kanlı agara da ekim yapılmalı ve anaerop şartlarda 48-72 saat inkübe edilmelidir (64).

2.9.8. Pozitif Kùltür Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Farklı venlerden alınan kan kùltürü 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 kùltürlerinden izole edilen etkenler 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. Özellikle KNS'ler kan kùltürü 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 kùltürü setinde pozitiflik söz konusu olduğunda KNS'lerin tür düzeyinde tanımlanması faydalı olabilir (9, 65).

2.9.9. 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 saptanamayan mikroorganizmalar arasında *Bartonella* spp, *Tropheryma whipplei*, *Mycobacterium* spp, *Mycoplasma* spp, *Streptobacillus* spp, virüsler ve riketsiyalar sayılabilir. Bunlar için özel besiyerleri ve yöntemlerin kullanılması gerekebilir.

Gram boyama ile mikroorganizma görülmüş şişelerden hızlı tanı ve antibiyotik duyarlılık testi için, bazı protokoller geliştirilmiştir. Bunlar arasında 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 mikrobiyolojik tanıya büyük katkı sağlayan MALDI-TOF MS kullanımını 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 basil, 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 maliyeti ya da sonuç verme süresini arttıracaktır. Yetişmiş eleman ve cihaz gereksinimi ve de maliyetlerinin yüksekliği nedeniyle, bu yöntemler henüz rutin kullanım için uygun gözükmemektedir (66).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Etik kurulun 10 Şubat 2016 gün ve 14 sayılı kararıyla onaylanan çalışmamızda, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına 1 Ocak 2016 – 31 Aralık 2016 tarihleri arasında erişkin servislerden transport kurallarına uygun olarak set halinde(1 aerob,1 anaerob şişe) gelen kan kültürleri çalışma kapsamına alındı. Set halinde gelen kan örnekleri içinde aynı hastaya ait birden fazla setler de değerlendirmeye alındı. Set halinde gelen kan örneklerinin hacimleri daha önceden işaretlenmiş BACTEC Plus Aerobic/F ve BACTEC Plus/Anaerobic kan kültür şişeleriyle karşılaştırılarak ölçüldü ve kaydedildi. Örneğin alınmasına müdahil olunmadığı gibi laboratuvara ulaşması ve laboratuvarında cihaza yerleştirildiği süreye dek, rutin iş akışının dışında bir uygulama yapılmadı.

3.1. Kan Kültür Sisteminde Yapılan İşlemler

Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 1 aerob (Plus Aerobic/F) ve 1 de anaerob (Plus Anaerobic/F) şişeden oluşan kan kültür setleri BD BACTEC 9240 (Becton Dickinson, USA) cihazına kayıtları yapılarak yerleştirildi. Yedi günlük inkübasyon dönemi boyunca kan kültürü şişeleri takip edildi.

3.1.1. BACTEC 9240

BACTEC 9240 kültür sistemi florometrik ölçüm yaparak mikroorganizma üremesini saptayan sürekli monitörize otomatize kan kültür sistemidir. İnkübe edilen kan kültür şişelerinde mikroorganizma üremesi sonucunda artan CO₂ miktarını florometrik olarak saptamaktadır.

3.1.2. Kan Kültür Şişelerinin İçerikleri

BACTEC Plus Aerobic/F kan kültürü şişesi

- İşlenmiş Su 30 ml
- Soya-Kazein Dijeste Broth % 3
- Maya Ekstraktı % 0.25
- Amino Asitler % 0.05

- Sodyum Polianetolesülfonat (SPS) % 0.05
- Vitaminler % 0.025
- Antioksidanlar/ Redükthanlar % 0.005
- İyonik Olmayan Tutucu Resin % 16

BACTEC Plus Anaerobik/F kan kültürü şişesi

- İşlenmiş Su 25 ml
- Soya-Kazein Dijeste Broth % 3
- Maya Ekstraktı % 0.25
- Hayvan Dokusu Dijeste
- Şeker %0.25
- Sodyum sitrat % 0.02
- Amino Asitler % 0.25
- Sodyum Polianetolesülfonat (SPS) % 0.05
- Vitaminler % 0.0006
- Antioksidanlar/ Redükthanlar % 0.16
- İyonik Olmayan Tutucu Resin % 16

3.1.3. Üreme Değerlendirilmesi

a. Üreme sinyali veren şişeler : Yedi günlük inkübasyon süresi içinde pozitif sinyal alınan şişeler pozitiflik zamanı kaydedilerek cihazdan çıkarıldı. Plastik üst kapakları alkolle silindikten sonra, steril enjektör yardımıyla 1-2 ml kan-broth karışımı şişeden aspire edildi. Alınan kan örneğinin bir kısmı ile sınıf 2 biyogüvenlik kabininde Gram boyama için yayma hazırlandı ve kalan miktarı ise %5 koyun kanlı agar, çukulata agar, EMB agar ve Sabouraud dextrose agara subkültürleri yapıp 35 °C de aerob ortamda bir gece inkübe edildi. Ayrıca pozitif sinyal veren anaerop şişelerden anaerop besiyerine de ekim yapıp gas pack ilave edilmiş jar içerisinde 48-72 saat 35 °C de inkübe edildi.

b. Üreme olmayan şişeler : İnkübasyon dönemi sonunda üreme sinyali alınmayan şişeler, cihaz tarafından “negatif” olarak sonlandırıldıktan sonra şişelerden aseptik koşullarda 1-2 ml kan-broth karışımı alınarak sınıf 2 biyogüvenlik kabini içinde çukulata agara subkültürleri yapıldı ve eş zamanlı Gram yayma preparatları incelendi.

3.1.4. Subkültürler İçin Kullanılan Besiyerleri

Kanlı Agar (Oxoid/İngiltere)

İçeriği

Proteoz pepton 15 g/l

Peptik dijesti 2.5 g/l

Maya ekstraktı 5 g/l

Sodyum klorid 5 g/l

Agar 12 g/l

Defibrinleştirilmiş koyun kanı %5

Hazırlanışı

Toz besiyeri 40,0 g/l konsantrasyonda olacak şekilde distile su içinde çözdürüldü. Otoklavda 121 °C’da 15 dakika sterilize edildi. Otoklav çıkışında 45-50 °C’a soğutulup %7 oranında defibrine koyun kanı ilave edilip karıştırıldı ve petri kutularına 15-20 ml döküldü.

Çukulata Agar (Liofilchem/İtalya)

İçeriği

Pepton 15 g/l

Dipotasyum fosfat 4 g/l

Monopotasyum fosfat 1 g/l

Sodyum klorid 5 g/l

Agar 17 g/l

Hazırlanışı

Toz besiyeri 43,0 g/l konsantrasyonda olacak şekilde distile su içinde çözdürüldü. Otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edildi. Otoklav çıkışı 50 °C 'a soğutuldu, %5-10'luk kan ilave edilip 80 °C 'lık benmaride çukolata rengini alıcaya kadar bekletildi daha sonra benmariden çıkarılıp 50 °C'a soğutuldu vitox saplement ilave edildi ve petri kutularına 15-20 ml olacak şekilde döküldü.

Eosin Metilen Blue Agar (EMB) (Oxoid/İngiltere)**İçeriği**

Pepton 10 g/l
Dipotasyum fosfat 2 g/l
Laktoz 10 g/l
Eosin Y 0.4 g/l
Metilen mavisi 0.06 g/l
Agar 15 g/l

Hazırlanışı

Toz besiyeri 37,5 g/l konsantrasyonda olacak şekilde distile su içinde çözdürüldü. Otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi. Otoklav çıkışında 45-50 °C'a soğutulup petri kutularına 15-20 ml döküldü.

Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (BD/ABD)**İçeriği**

Pepton 10 g/l
Dekstroz 40 g/l
Agar 15 g/l

Hazırlanışı

Toz besiyeri 65 g/l konsantrasyonda olacak şekilde distile su içinde çözdürüldü. Otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi. Otoklav çıkışında 45-50 °C'a soğutulup petri kutularına 15-20 ml döküldü.

Anaerobe Basal Agar(Oxoid,England)**İçeriği**

Kazein dijesti 10 g/l

Pepton 10 g/l

Maya ekstraktı 5 g/l

Dekstroz 1 g/l

Sodyum klorid 5 g/l

L-Arginin 1 g/l

Sodyum pirüvat 1 g/l

Hemin 5 mg/l

Hazırlanışı

Toz besiyeri 46 g/l konsantrasyonda olacak şekilde distile su içinde çözdürüldü. Otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi. Otoklav çıkışında 45-50 °C'a soğutulup , %5-10'luk at kanı ilave edilip petri kutularına 15-20 ml döküldü.

3.2. Bakterilerin Tanımlanması ve Antibiyogram Testleri

Üreyen bakterilerin tanımlaması için geleneksel testler, Phoenix (Becton Dickinson, ABD) ve Vitek (Biomerieux, Fransa) otomatize sistemlerinin bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testi panelleri kullanıldı.

3.2.1. Geleneksel Testler

a. Gram Boyama

Tüm pozitif sinyal veren, üreme olmayan şişeler ve subkültürlerdeki kolonilerden yayma yapıldı. Havada kurutulan yaymalar bek aleviden iki üç kez geçirilerek tespit edildi ve aşağıdaki boyama prosedürü uygulandı;

Kristal viyolet damlatılarak, 30 sn. beklendi ve preparat su ile yıkandı. Lugol damlatılarak, 30 sn. beklendi ve su ile yıkandı. Aseton alkol ile renk giderildi ve su ile yıkandı. Safranin damlatılarak, 30 saniye beklendi ve su ile yıkandı. Kurutma kağıdı arasında hafifçe bastırılarak kurutulurak 100'lük büyütme objektif ile immersiyon yağı damlatılarak incelendi.

b. Katalaz Testi (Merck, Germany)

Gram boyalı preparatlarda gram pozitif kok gözlenen, subkültürlerinde gram pozitif kok üreyen kolonilere katalaz testi yapıldı. Temiz bir lam üzerine katı besiyerinde üremiş saf kolonilerde 3-4 tanesi öze ile aktarıldı ve üzerine bir damla %3'lük H₂O₂ damlatıldı. Köpürme görülmesi pozitif katalaz testi olarak yorumlandı

c. Tüpte Koagülaz Testi (Plasmatec, United Kingdom)

Gram boyalı preparatları ve koloni morfolojileri stafilokoklarla uyumlu, katalaz testi pozitif olan kolonilere tüpte koagülaz testi yapıldı. 0.5 mL tavşan plazması içeren steril ve kapaklı deney tüpü içine incelenecek stafilokok kolonilerinden 3-4 tane öze ile alındı ve homojenize edildi. Tüp 35 °C'de saat başı incelenerek 24 saate kadar inkübe edildi. Bu süre içerisinde tüp içinde gevşek bir fibrin ağı oluşumu ya da tam bir pıhtılaşma olduğunda koagülaz testi pozitif olarak değerlendirildi.

d. Oksidaz (Oxoid, İngiltere)

Gram yaymaları ve koloni morfolojileri gram negatif bakteri ile uyumlu kolonilere oksidaz testi yapıldı. Oksidaz testi, sitokrom oksidaz enzimi üretiminin gösterilmesi prensibine dayanır. Bazı bakteriler, demir içeren bir hemoprotein olan sitokrom oksidaz veya indofenol oksidaza sahiptirler. Bu enzimler NADH gibi verici

bileşiklerden bir elektron alıcısına (genellikle oksijene) elektron taşınmasını katalize ederler. Taze kültürden incelenecek kolonilerden 3-4 tane öze ile alınıp kurutma kağıdına sürüldü ve üzerine 1-2 damla oksidaz ayracı (p-fenilen diamin dihidroklorid) damlatıldı. Rengin 10 sn içinde mavi-mora dönüp dönmediği gözlemlendi mavi mor renk oluşması halinde test pozitif olarak yorumlandı

3.2.2. Phoenix (BD, ABD) ve Vitek (Biomerieux, Fransa) Bakteri Tanımlama Panelleri

Phoenix sisteminde bakteri tanımlama(ID) ve antibiyotik duyarlılık testleri (AST) aynı panelde yer almaktadır. Paneller 136 mikrokuyucuk içerirler. Bu kuyucukların 51 tanesi identifikasyon amaçlıdır. İdentifikasyon kuyucuklarında kurutulmuş biyokimyasal substratlar ve 2 floresan kontrol kuyucuğu bulunur. AST ise liyofilize antimikrobiyal madde içeren 84 kuyucuk ve 1 adet üreme kontrol kuyucuğu içerir.

Cihazda inkübasyon 35 °C’de yapılmaktadır. İnkübasyon süresince cihaz, panelleri periyodik olarak takip eder. Kuyucuklarda meydana gelmiş olan biyokimyasal reaksiyonlar veya bulanıklık otomatik olarak her 20 dakikada bir test ederek o etken için veriler sistemin işlemcisinde toplanır. Reaksiyonların tamamlanmasının ardından veri tabanındaki bilgilerle kıyaslayarak bakterileri cins ve tür düzeyinde tanımlamış olur.

Gram negatif, gram pozitif panellerinde bulunan tanımlamada kullanılan kimyasallar tabloda verilmiştir (Tablo 3.1). Gram negatif bakterilerin identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığı için NMIC/ID-99 paneli, gram pozitif bakterileri için ise PMIC/ID-101 paneli kullanıldı.

Tablo 3.1. Gram negatif bakteri identifikasyon panelinde bulunan biyokimyasal reaktifler

1	l-Fenilalanin-Amc	24	l-Prolin-Na
2	4Mu-N-Asetil-Bd-Glikozaminid	25	Gama-l-Glutamil-Na
3	l-Glutamik Asit-Amc	26	Bis (pnp) Fosfat
4	l-Triptofan-Amc	27	Pnp-Bd-Glikozid
5	l-Piroglutamik Asit-Amc	28	Beta-Alloz
6	l-Prolin-Amc	29	N-Asetil-Galaktozamin
7	l-Arginin-Amc	30	N-Asetil-Glikozamin
8	Arginin-Arginin-Amc	31	Sorbitol
9	Glisin-Amc	32	Sükroz
10	l-Lökin-Amc	33	Galakturonik asit
11	Lizin-Alanin-Amc	34	Maltuloz
12	Glutaril-Glisin-Arginin-Amc	35	l-Ramnoz
13	Glisin-Prolin-Amc	36	Beta-Gentiobioz
14	Kolistin	37	Dekstroz
15	Polimiksin b	38	D-Galaktoz
16	D-Mannitol	39	D-Fruktoz
17	Sitrat	40	D-Glukonik asit
18	Asetat	41	D-Melibiyoz
19	Adonitol	42	l-Arabinoz
20	Malonat	43	Metil-B-Glikozid
21	Alfa-Ketoglutarik Asit	44	Ornitin
22	Tiglik Asit	45	Üre
23	Floresan Pozitif Kontrolü	46	Eskülin

Tablo 3.2. Gram pozitif bakteri identifikasyon panelinde bulunan biyokimyasal reaktifler

1	4Mu-Bd-Selobiyozid	25	D-Fruktoz
2	l-Alanin-Amc	26	İminodiasetik Asit
3	4Mu-Bd-Glikozid	27	Alfa-Ketoglutarik Asit
4	l-Prolin-Amc	28	D-Mannitol
5	l-Piroglutamik Asit-Amc	29	3-Metiladipik Asit
6	l-Fenilalanin-Amc	30	Timidin
7	l-Triptofan-Amc	31	Floresan Pozitif Kontrolü
8	4Mu-Fosfat	32	Floresan Pozitif Kontrolü
9	Metionin-Amc	33	Alanin-Alanin-Pna
10	4Mu-Ad-Glikozid	34	l-Prolin-Pna
11	Arginin-Arginin-Amc	35	Valin-Alanin-Pna
12	Glisin-Prolin-Amc	36	Pnp-Ad-Glikozid
13	4Mu-Bd-Glukuronid	37	Pnp-Fosfat
14	l-Lökin-Amc	38	Beta-Gentiobioz
15	4Mu-N-Asetil-Bd-Glikozaminid	39	D-Sükroz
16	l-Arginin-Amc	40	Maltotrioz
17	4Mu-Fosfat (trehalozla)	41	N-Asetil-Glikozamin
18	l-Histidin-Amc	42	D-Trehaloz
19	l-İzolökin-Amc	43	D-Tagatoz
20	4Mu-Bd-Galaktozid	44	Maltoz
21	Kolistin	45	Dekstroz
22	Polimiksin	46	Üre
23	D-Glukonik Asit	47	Eskülin
24	3-Metil Glutarik Asit	48	Nitrosefin

VITEK 2 sisteminde ise gram negatif fermenter ve non fermenter basiller, gram pozitif koklar ve basiller, mayalar ve gram pozitif sporlu basillerin tanımlanması için dört farklı kolorimetrik kart bulunur. Reaktif kartların her biri 64 kuyucuğa sahiptir. Bakteri identifikasyonu için saf kültürden yeterli sayıda koloni alınarak 3 ml steril tuzlu suda 0.50-0.63 McFarland değeri ayarlandı. Süspansiyon tüpü ve ID kartı kasete yerleştirildi. Antibiyogram için ise ID tüpünden içinde 3 ml steril tuzlu su bulunan AST tüpüne, gram negatif bakteriler için 145 µl gram pozitif bakteriler için ise 280 µl ilave edildi ve AST kartı kasete yerleştirildi.

3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi

Aerobik ve anaerobik kan kültür şişelerinde üreyen izolatların üreme ve üreme zamanları karşılaştırıldı. Kan örneklerinde varlığı saptanan bakterilerin, hastaların LİS sisteminde yer alan klinik bilgileri ve diğer laboratuvar verileri eşliğinde değerlendirilmesi yapıldı. Buna göre;

Gerçek Pozitiflik; Hastanın klinik ve laboratuvar bulguları bakteriyemiyle uyumlu, deri florasına ait olmayan tek etken üremiş, iki veya daha fazla kan kültürü şişesinde KNS üremesi saptanmış ise veya klinik ve laboratuvar olarak bakteriyemi düşünülüyorsa tek kültürde saptanan bakteri patojen olarak kabul edildi.

Kontaminasyon; Hastanın klinik ve laboratuvar bulguları bakteriyemi desteklemiyorsa, tek kan kültür şişesinden KNS izole edilmiş veya bakteriyemi destekleyen klinik ve laboratuvar bulgusu olmadan 24 saat içinde alınmış birden fazla şişeden farklı antibiyotik paternine sahip iki farklı KNS suşunun izole edilmesi, üç ve daha fazla sayıda farklı bakteri üremesi saptanmışsa kontaminant olarak değerlendirildi.

Yalancı Pozitiflik; Bactec 9240 cihazının pozitif sinyali vermesine rağmen yapılan subkültürlerde üreme saptanmaması ve Gram boyalı preparatlarda mikroorganizma görülmemesi.

Yalancı Negatiflik; Örneklerin Bactec 9240 cihazında 7 günlük inkübasyonu tamamlandıktan sonra cihazın “negatif” sinyali vermesinden sonra yapılan subkültürlerde bakteri üremesinin saptanması ve Gram boyalı preparatlarda mikroorganizma görülmesi.

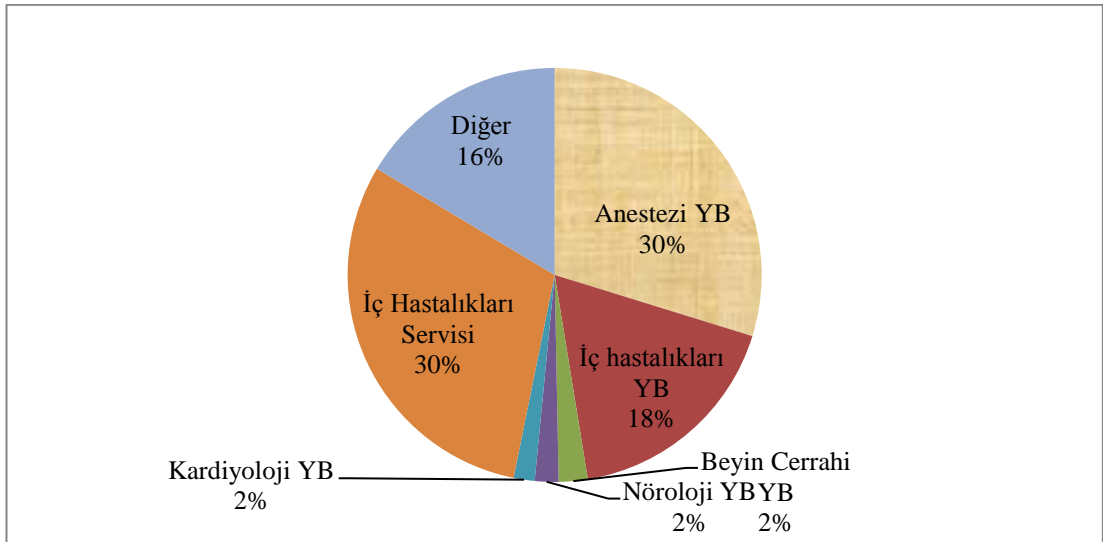
Gerçek Negatiflik; BACTEC 9240 cihazında 7 günlük inkübasyonu tamamlandıktan sonra negatif sinyal alınan şişelerden yapılan subkültürlerde bakteri üremesinin saptanmaması ve Gram boyalı preparatlarda mikroorganizma görülmemesi.

3.4. İstatistik Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin analizinde SPSS 16.0 (Statistical Package for Social Sciences) Paket programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama, standart sapma ve yüzde dağılımları verilmiştir. Bunların yanı sıra sayısal olmayan değişkenlerin karşılaştırmasında Ki-Kare testi uygulanmıştır. İkili değişkenlerin sayısal verilerle karşılaştırılmasında Bağımsız Değişkenler t-testi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar %95 ($P < 0,05$) anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir

4. BULGULAR

Çalışma kapsamında mikrobiyoloji laboratuvarına gelen 11234 kan kültür şişesinin 8178'i (%72,7) bir aerob ve bir de anaerob şişeden oluşan set şeklindeydi. Mikrobiyoloji laboratuvarımıza set halinde gelen kan örneklerinin %54'ü yoğun bakım ünitelerinden geldi (Şekil 4.1.). Değerlendirmeye alınan 8178 kan kültür şişesinin 974'ünde (%11.9) pozitif sinyal izlendi. Pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinde toplam 1084 izolat üredi. Pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinin 19'unda yabancı pozitiflik gözlenirken (%0.2) yabancı negatif sinyal veren kan kültürlerinin sayısı 6 idi (yabancı negatiflik %0.06). Değerlendirilen kan kültür şişelerinin 7217'sinde ise üreme olmadı. Tablo 4.1.'de kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar gösterilmiştir. Tablo 4.1'deki veriler bakteri ve maya türlerine göre şekil 4.3., 4.4. ve 4.5. ve 4.6.'da özetlenmiştir.



Şekil 4.1. Kan kültürlerinin servislere göre dağılımı

Kan kültürlerinde üreyen toplam 1084 izolatın 635'i klinik açıdan anlamlı 449'u ise kontaminant olarak değerlendirildi (kontaminasyon oranı %5.5). Kontaminasyona sebep olan bakterilerin çoğunluğunu koagülaz negatif stafilokoklar oluştururken *Bacillus*, *Corynebacterium* ve viridans streptokoklar diğer kontaminantlardı (Şekil 4.7.). Kontaminasyona sebep olan koagülaz negatif stafilokokların dağılımı ise şekil 4.8.'de özetlenmiştir.

Pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinden yapılan Gram boyalı preparatların 52'sinde (%5.3) kültür sonucu ile Gram boyama arasında uyumsuzluk gözlemlendi.

Gram boyama sonucu ile kültür sonucu arasında uyumsuzluk bulunan 52 örnekte *Enterobacteriaceae* (16) ve non fermenter gram negatif bakteri (29), enterokok (3) ve streptokok (4) üredi. Pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinden yapılan gram boyama değerlendirmesi tablo 4.3'te özetlenmiştir.

Kan kültür şişelerinde üreyen klinik açıdan anlamlı 635 izolatın 279'u (%43,9) gram pozitif kok, 201'i (%31,6) *Enterobacteriaceae*, 102'si non fermenter gram negatif basil (%16), 45'i maya (%7.1), 6'sı zorunlu anaerob bakteri (%0.9) ve 2'si gram pozitif basil (%0.3) şeklindeydi.

Etken kabul edilen majör patojenler; koagülaz negatif stafilokok (114, %18), *S.aureus* (108, %17.1), *Klebsiella* sp (86, %13.6), *E.coli* (63, %9.9), maya (45, %7.1) ve *Acinetobacter* sp (43, %6.8) idi.

Aerobik ve anaerobik kan kültür şişelerinde üreyen klinik açıdan anlamlı 635 mikroorganizmanın 488'i (%77) her iki şişede, 77'si (%12) sadece aerobik şişede ve 70'i (%11) sadece anaerobik şişede tespit edildi. Aerobik ve anaerobik kan kültür şişelerinde üreyen klinik açıdan anlamlı 635 izolatın karşılaştırılması tablo 4.5.'te özetlenmiştir. Tablo 4.5.'teki veriler şişe türlerine göre şekil 4.2.'de gösterilmiştir.

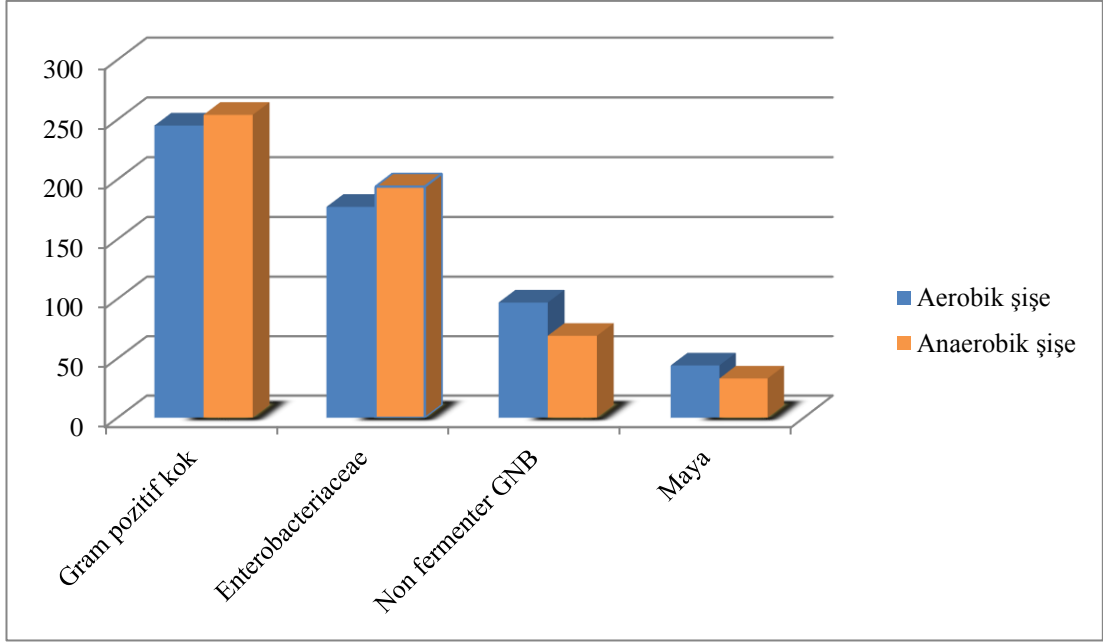
Pseudomonas sp, *acinetobacter* sp ve maya üremelerinin çoğu anaerobik şişeye kıyasla aerobik şişede tespit edildi ($P < 0.05$). *E.coli* , *Serratia marcescens* izolatları ise aerobik şişeye kıyasla anaerobik şişede daha fazla üredi ($P < 0.05$). *Enterobacteriaceae* grubunun geri kalanı için istatistiksel olarak 2 şişe arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

Tablo 4.1. Kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar

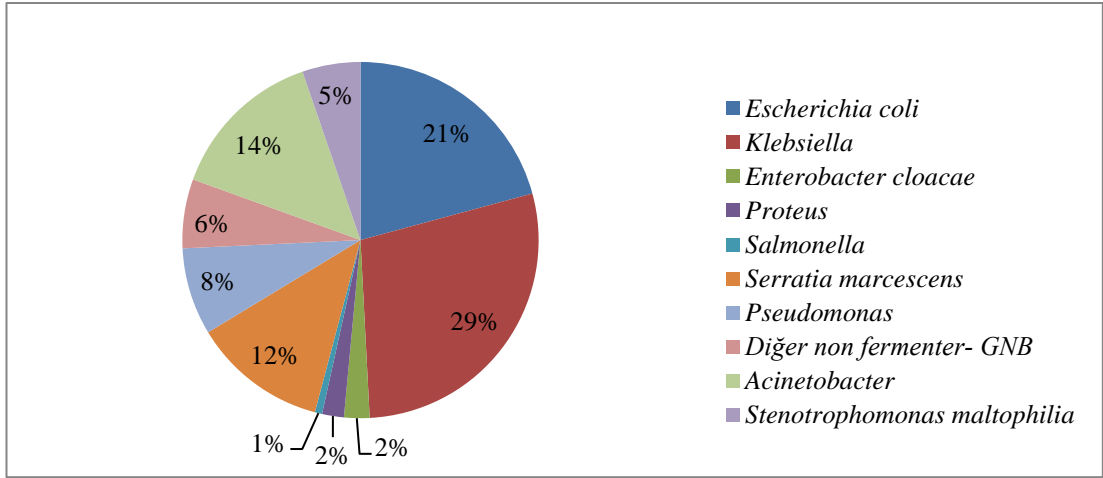
Mikroorganizma	İzolat sayısı	%
Gram pozitif	730	67.3
Koagülaz negatif stafilokok	519	47.8
<i>S.aureus</i>	108	9.9
<i>S.pneumoniae</i>	2	0.1
Viridans streptokok	19	1.7
<i>Enterococcus faecalis</i>	22	2
<i>Enterococcus faecium</i>	29	2.6
<i>Bacillus</i>	13	1.1
<i>Corynebacterium</i>	18	1.6
Enterobacteriaceae	201	18.5
<i>Escherichia coli</i>	63	5.8
<i>Klebsiella</i> türleri	86	7.9
<i>Enterobacter cloacae</i>	7	0.6
<i>Proteus</i> sp	6	0.5
<i>Salmonella</i> türleri	2	0.1
<i>Serratia marcescens</i>	37	3.4
Non fermenter GNB	102	9.4
<i>Pseudomonas</i> türleri	24	2.2
Diğer non fermenter GNB	19	1.7
<i>Acinetobacter</i> türleri	43	3.9
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	16	1.4
Maya	45	4.1
<i>Candida albicans</i>	12	1.1
<i>Candida glabrata</i>	11	1
<i>Candida parapsilosis</i>	7	0.6
<i>Candida tropicalis</i>	6	0.5
<i>Candida krusei</i>	2	0.1
<i>Candida</i> türleri	3	0.2
<i>Trichosporon</i>	2	0.1
<i>Geotrichum capitatum</i>	2	0.1
Anaerob	6	0.5
<i>Propionibacterium</i>	5	0.4
<i>Peptostreptococcus</i>	1	0.09

Tablo 4.2. Kan kültürü sonuçlarının genel değerlendirmesi

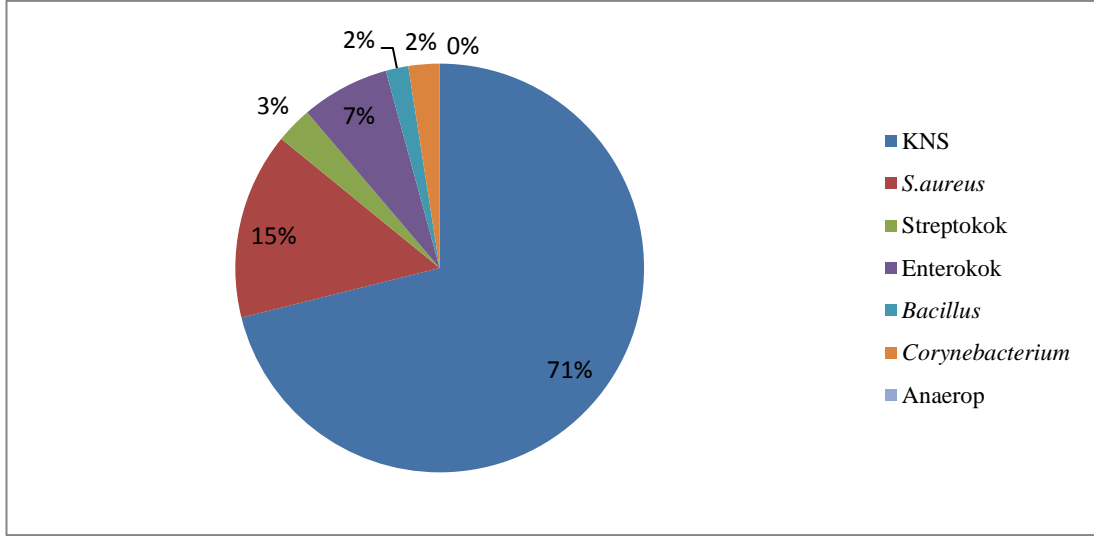
		%
Patojen üreme	635	6.4
Üreme yok	7217	88.1
Yalancı pozitiflik	19	0.2
Yalancı negatiflik	6	0.06



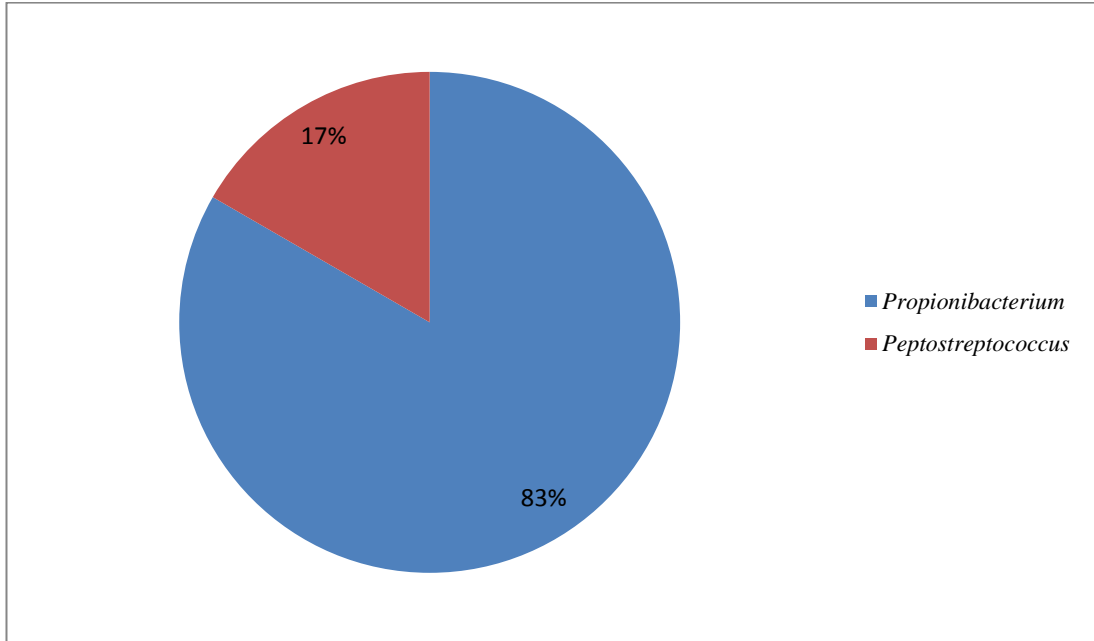
Şekil 4.2. Aerobik ve anaerobik şişede üreyen mikroorganizma gruplarının dağılımı



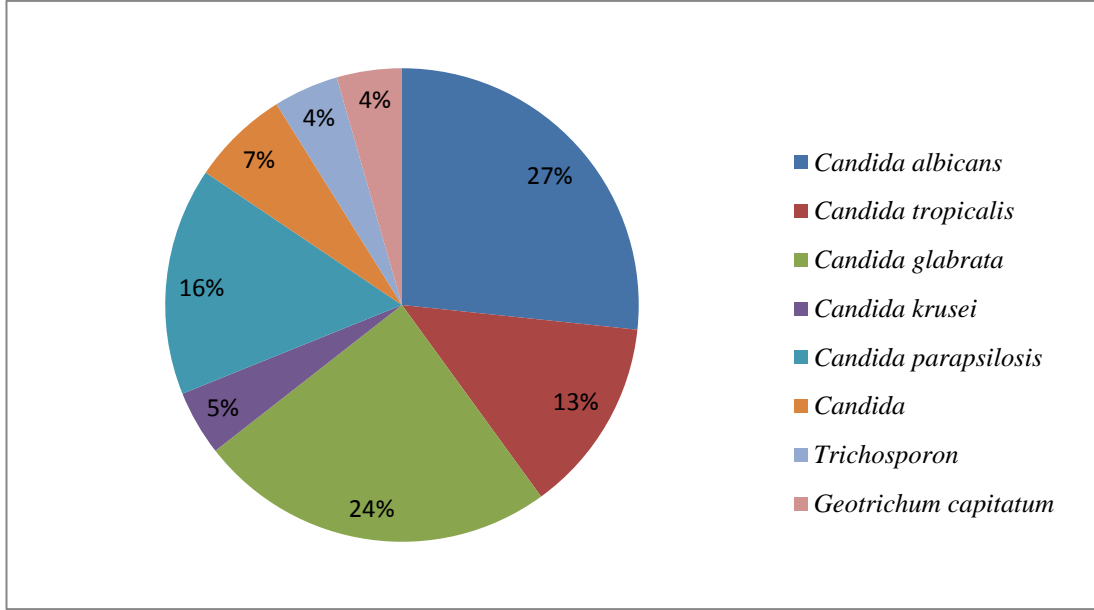
Şekil 4.3. Kan kültürlerinde üreyen gram negatif bakterilerin dağılımı



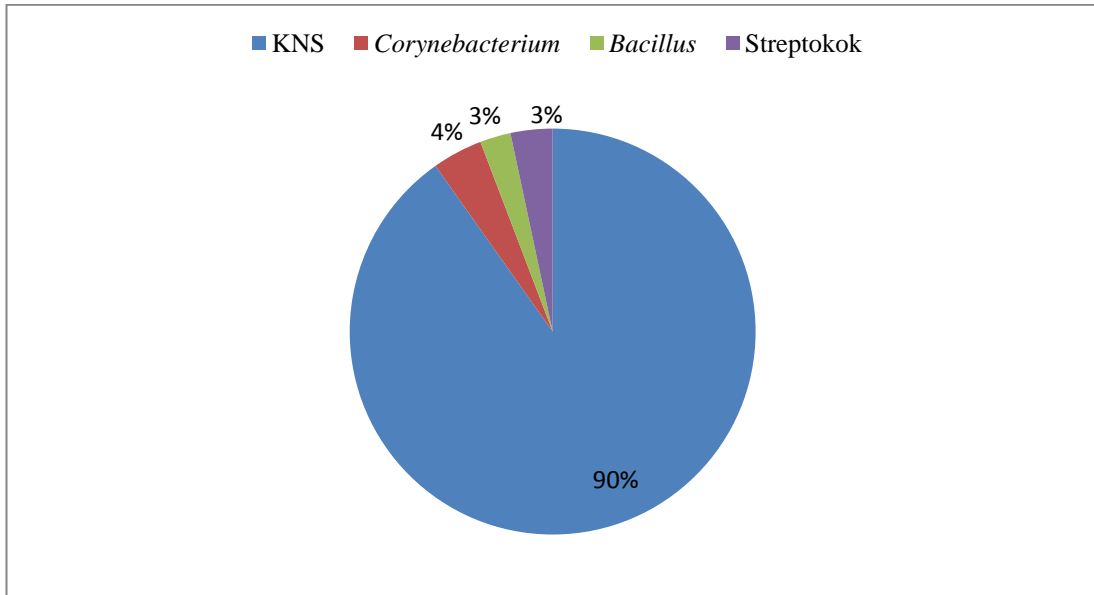
Şekil 4.4. Kan kültürlerinde üreyen gram pozitif bakterilerin dağılımı



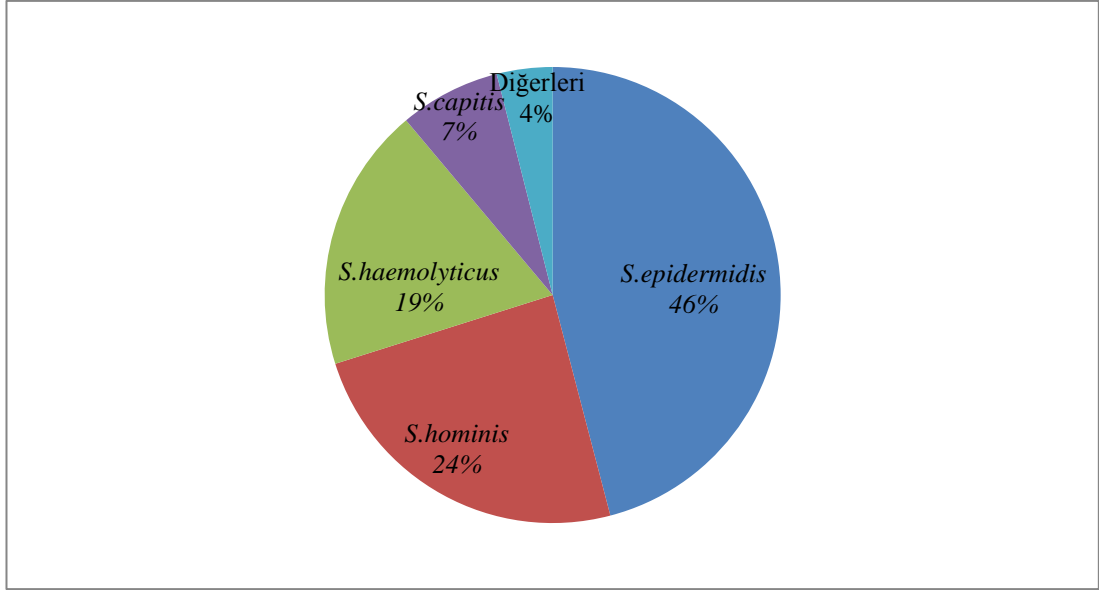
Şekil 4.5. Kan kültürlerinde üreyen zorunlu anaerob bakterilerin dağılımı



Şekil 4.6. Kan kültürlerinde üreyen mayaların dağılımı



Şekil 4.7. Kan kültürü kontaminantı olan bakterilerin dağılımı

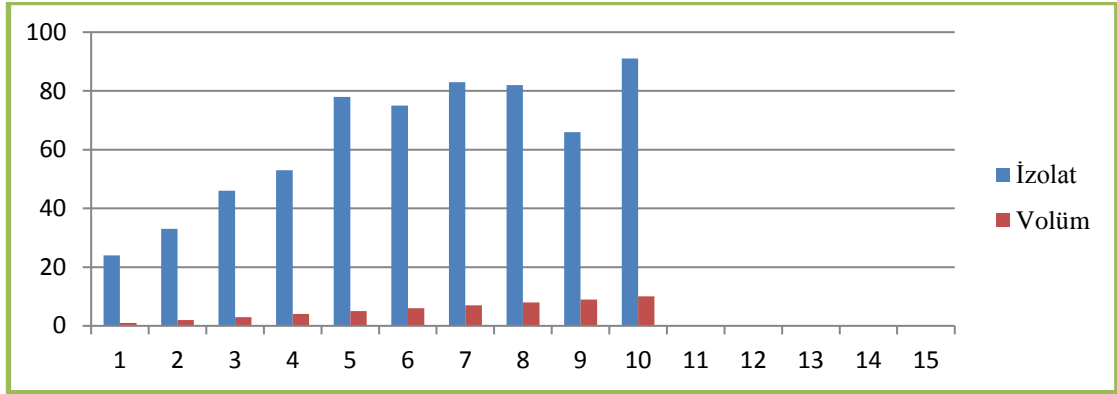


Şekil 4.8. Kan kültürü kontaminantı olan KNS'lerin dağılımı

Tablo 4.3. Pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinden yapılan gram boyama değerlendirilmesi

Mikroorganizma	Doğru değerlendirilen Gram boyama/Total	%
Gram pozitif		
Koagülaz negatif stafilokok	519/519	100
<i>S.aureus</i>	108/108	100
<i>Enterococcus</i>	48/51	94.1
Streptokok	17/21	80.9
Enterobacteriaceae		
<i>Escherichia coli</i>	59/63	93.6
<i>Klebsiella</i> türleri	77/86	89.5
<i>Enterobacter cloacae</i>	6/7	85.7
<i>Proteus</i> türleri	6/6	100
<i>Salmonella</i> türleri	2/2	100
<i>Serratia marcescens</i>	35/37	94.5
Non fermenter GNB		
<i>Pseudomonas</i> türleri	23/24	95.8
Diğer non fermenter GNB	17/19	89.4
<i>Acinetobacter</i> türleri	20/43	46.5
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	16/16	100
Maya	45/45	100

Kan kültür şişelerinde artan örnek hacmi ile tespit edilen izolat sayısı arasında anlamlı bir artış tespit edildi ($p < 0.05$). Kan kültür hacmi ile pozitif sinyal süresi arasında ise anlamlı bir ilişki bulunamadı (Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. Kan kültürü şişelerindeki ortalama örnek hacmi ve tespit edilen izolat sayısı

Ortalama pozitif sinyal süreleri aerobik ve anaerobik şişeler için sırasıyla 18.5 ve 20.9 saattir. İnkübasyonun ilk 24 saatinde klinik açıdan anlamlı bakteri ve mantar izolatlarının sırasıyla %91.7 ve %92.8'i tespit edilirken ilk 72 saatte %97.2 ve %94.9'u tespit edildi. Tablo 4.4.'te BACTEC sürekli otomatize sistemi kullanılarak aerobik ve anaerobik şişede tespit edilen her mikroorganizma için ortalama pozitif sinyal süreleri gösterildi.

Gram pozitif kok, non fermenter gram negatif basil, gram pozitif basil ve maya üremelerinin çoğu anaerobik şişeye göre aerobik şişede daha erken tespit edildi. *Enterobacteriaceae* grubunda *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp anaerobik şişede aerobik şişeye göre daha erken tespit edilirken, *Serratia marcescens* izolatları aerobik şişede daha erken tespit edildi. *Proteus* sp, *Salmonella* sp ve *Enterobacter cloaca* için ise iki şişe arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Anaerob kan kültür şişesinde üreyen zorunlu anaerob bakteriler için ortalama pozitif sinyal süresi 95.9 saat olarak tespit edildi.

Tablo 4.4. Aerob ve anaerob kan kültür şişelerinde üreyen izolatların üreme zamanlarının karşılaştırılması

		Aerobik Şişe			Anaerobik Şişe			
		Üreme Zamanı (saat)			Üreme Zamanı (saat)			
Mikroorganizma	İzolat (n)	Ortalama	Ortanca	Min-Maks	İzolat (n)	Ortalama	Ortanca	Min-Maks
Gram Pozitif Kok	245	20.1	18.1	0.5-130.8	254	21.8	22.5	1.05-135.6
<i>S.aureus</i>	98	18	12.3	1.4-93.3	104	19	16.8	1.2-64.6
Koagülaz negatif stafilokok	100	23.7	19.2	0.3-130	98	24.9	21.4	1.05-129.2
Phomokok	2	23.3	23.3	23.3-23.3	2	22.1	22.1	22.1-22.1
Diğer streptokoklar	4	16.8	17.7	10.9-21.9	4	45.2	27.4	1.8-124.8
Enterokok	41	16.1	13.8	3.2-42.7	46	19.5	12.4	1.05-135.6
<i>Enterobacteriaceae</i>	177	16.5	9.6	0.6-111.7	194	15.1	11.2	0.75-150.5
<i>Escherichia coli</i>	54	18.1	8.2	0.8-111.7	63	17.3	13.2	1.1-150.5
<i>Klebsiella</i> türleri	77	18.1	9.8	0.6-93.6	81	13.1	10.6	0.75-62.6
<i>Enterobacter cloacae</i>	7	5.9	3.9	1.9-8.9	6	7.9	7.7	2.1-13.9
<i>Proteus</i> türleri	6	3.8	3.3	1.6-6.5	6	3.2	2.7	2.9-5.5
<i>Salmonella</i> türleri	2	31.2	31.2	31.2-31.2	2	45.7	45.7	45.7-45.7
<i>Serratia marcescens</i>	31	13.6	12.2	0.9-54.7	36	17.1	11.3	1.05-133.5
Non fermenter GNB	97	13.6	9.9	2.3-39.1	69	25.9	17.4	1.5-125.9
<i>Pseudomonas</i> türleri	24	12.4	6.6	3.9-26.7	16	19.9	19.9	3.5-35.3
<i>Pseudomonas</i> dışı non fermenter	18	28.1	27.4	26.1-31.5	13	42.6	37.1	32.4-58.3
<i>Acinetobacter</i> türleri	40	11.3	8.8	2.3-39.1	27	43.6	18.4	3.6-46.2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	15	17	9.8	5.1-38.1	13	33.3	14.6	1.5-125.9
Gram pozitif basil	2	49	37.4	17.5-95.9	2	45.1	45.7	16.9-72
Maya	44	22.8	22.1	1.5-50.1	33	22	18.6	10.9-47.1
Anaerob	0				6	95.9	143.9	15.9-150

Tablo 4.5. Aerob ve anaerob kan kültür şişelerinde üreyen izolatların karşılaştırılması

Mikroorganizma	İzolat sayısı (n)	Sadece Aerobik	Aerobik ve Anaerobik	Sadece Anaerobik	İstatistikî analiz X ² ; p
Gram Pozitif Kok	279	25	220	34	18,538;0,173
<i>S.aureus</i>	108	4	94	10	2,017 ; 0,156
Koagülaz naegatif stafilokok	114	16	84	14	14,428;0,225
<i>S.pneumoniae</i>	2	0	2	0	-
Diğer streptokoklar	4	0	4	0	0,608*
Enterokok	51	5	36	10	1,251; 0,263
Enterobacteriaceae	201	7	170	24	9,544;0,002
<i>Escherichia coli</i>	63	0	54	9	0,002*
<i>Klebsiella</i> türleri	86	5	72	9	0,748;0,387
<i>Enterobacter cloacae</i>	7	1	6	0	1,143;0,285
<i>Proteus</i> türleri	6	0	6	0	-
<i>Salmonella</i> türleri	2	0	2	0	-
<i>Serratia marcescens</i>	37	1	30	6	0,0095*
Non fermenter GNB	102	33	64	5	29,048;0,000
<i>Pseudomonas</i> türleri	24	8	16	0	0,002*
Diğer GNF- GNB	19	6	12	1	0,73*
<i>Acinetobacter</i> türleri	43	16	24	3	10,928;0,001
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	16	3	12	1	0,582*
<i>Corynebacterium</i>	2	0	2	0	1,013;0,314
Maya	45	12	32	1	9,915;0,002
Anaerob	6	0	0	6	0,002*

*Fisher's Exact Test

Kliniklerden gelen kan kültürlerinde şişe başına en az kan kültür hacmi enfeksiyon hastalıkları, kadın doğum ve üroloji servislerinden gelirken, en çok ortopedi, beyin cerrahi ve acilden geldi (Tablo 4.6.).

Tablo 4.6. Kliniklerden gelen kan kültür şişelerindeki ortalama hacim

Geldiği Servis	Kan Kültür Şişesindeki Ortalama Hacim (ml)
Acil	5.8
Anestezi Yoğun Bakım	5.5
Beyin Cerrahi	6.2
Beyin Cerrahi Y.B	4.6
Genel Cerrahi	5.0
Genel Cerrahi Y.B	5.3
Göğüs Hastalıkları	5.6
İç Hastalıkları	3.9
İç Hastalıkları Endokrinoloji	5.0
İç Hastalıkları Gastroloji	4.7
İç Hastalıkları Hematoloji	4.9
İç Hastalıkları Nefroloji	5.0
İç Hastalıkları Romatoloji	5.0
İç Hastalıkları Y.B	4.7
Kadın Doğum	2.0
Kalp Damar Cerrahisi	5.1
Kardiyoloji Y.B	4.3
Klinik Bakteriyoloji	3.8
M.Onkoloji	3.9
Nöroloji	3.9
Nöroloji Y.B	5.7
Ortopedi	10
Psikiyatri	5.5
Radyasyon Onkolojisi	5.2
Üroloji	3.0

5. TARTIŞMA

Dolaşım sistemi enfeksiyonları yüksek mortalite ve morbiditeyle seyreden, erken tanı konulup tedavi edildiğinde mortalite oranlarının azaldığı klinik bir tablodur. Bakteriyemi ve fungeminin hızlı tanısıyla olası etkenin ve antimikrobiallere duyarlılığının saptanarak gerekli tedavinin düzenlenmesi, sağkalım açısından önem taşır (67).

Dolaşım sistemi enfeksiyonlarına bağlı mortalite oranları merkezden merkeze değişmekle beraber %12-80 arasında olup ortalama %35 civarındadır (17, 68).

Kan kültürleri, nispeten uzun sürede sonuç alınmasına rağmen sepsis tanısında altın standarttır (43, 71, 72, 73). Yaklaşık 50 yıldır sürekli monitörize kan kültür sistemleri pek çok klinik mikrobiyoloji laboratuvarında kanda mikroorganizma varlığının erken saptanmasında kullanılmaktadır. Örnekler, cihaz sinyal vermediği sürece beş veya yedi güne kadar sistemde tutulmaktadır (67, 74). Üreme olan kan kültüründen patojenlerin identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması yaklaşık 24-72 saat sürmektedir (17, 75, 76). Bu gecikme nedeniyle sepsis tanısını klinisyenler sıklıkla klinik semptomlara göre koymakta ve antibiyotik tedavisine klinik duruma göre başlamaktadırlar (77). Gram boyama sonuçlarına göre klinisyen tedaviyi yönlendirebilmektedir. Ancak geniş spektrumlu ampirik tedavi, mortalite hızının artmasına ve antibiyotik direncine neden olmaktadır (77). Yavaş ve zor üreyen organizmalarla ortaya çıkan bakteriyemilerde, invaziv fungal enfeksiyonlarda ve kan almadan önce antibiyotik tedavisi alanlarda kan kültürlerinin duyarlılığı düşüktür (69). Pozitiflik oranı alınan kan miktarı, antibiyotik tedavisi, steril şartlarda alınması ve transport şartlarından etkilenir (73).

Dolaşım sistemi enfeksiyonlarının yaklaşık %30-40'ında kan kültürleri pozitif bulunur (33, 44). Bizim çalışmamızda kan kültürlerinin pozitiflik oranı %11.9 bulunmuştur. Ülkemizde yapılan çalışmalarda bu oran %8,6-32,95 arasında bildirilmiştir (30, 78, 79, 80). Yurt dışında Mehdinejad ve ark.'nın yaptığı çalışmada bu oran %5.6 , Luzzaro ve ark.'nın çalışmasında %12 olarak bulunmuştur (81, 82). Çıkan sonuçlardaki farklılığa büyük ölçüde çalışma yapılan toplulukların farklı olması, hastaların klinik durumlarının ve yaş gruplarının değişkenlik göstermesi gibi nedenlerin sebep olduğu düşünülmektedir.

Pozitiflik oranının düşük olmasının nedeni enfeksiyonun lokal olması, yetersiz miktarda kan alınması, kan kültürünün uygun zamanda alınmaması, hastanın kültür alınmadan önce antibiyotik kullanması olabilir. Yavaş üreyen mikroorganizmalar, bazı zor üreyen bakterilerde, bakteriyel ve mantar yükü düşük olduğunda, önceden antimikrobiyal ve antimikotik tedavi alanlarda pozitiflik oranı azalabilir (33, 34).

Kan kültür sistemlerinde yalancı pozitif sinyal verme oranı % 0,3-10,4 arasında değişmektedir (30, 78, 80, 83). Bizim çalışmamızda da 974 üreme sinyali veren şişeden 19'u (%2,9) yalancı pozitif olarak değerlendirildi. Bu dönem içerisinde değerlendirilen tüm şişeler dikkate alındığında yalancı pozitiflik oranı %0,2 idi. Yalancı negatiflik veren kan kültürü şişe sayısı ise 6 (%0.06) olarak bulundu. Bu şişelerin 2'si anaerob ve 4'ü aerob kan kültür şişesiydi.

Kan hücrelerinin ürettiği CO₂ miktarındaki artma ya da lökosit düzeylerinin yüksek olması, otomatize kan kültür sistemlerinde yalancı pozitif sinyal oluşmasına neden olabilir (61, 63). Ayrıca üremesi yavaş ve zor olan ya da kültürü yapılamayan mikroorganizmalarla anaerobik mikroorganizmaların varlığı da yalancı pozitif sinyale neden olabilir. *S. pneumoniae* gibi bazı bakteriler parçalanmaya yatkındır ve sinyal varlığına rağmen pasajlarda üreme olmayacağı için yalancı pozitif sinyal olarak değerlendirilir (47, 84). Kan kültür şişelerinin fabrikasyon aşamasında çevrede bulunabilen ve insanlarda enfeksiyon yapmayan mikroorganizmalarla kontamine olması sonucu da cihaz pozitif sinyal vermiş olabilir (85). Kültürlerin pozitif sinyal verip pasajlarda üreme olmamasının bir başka nedeni antibiyotik kullanımı ile bakterilerin L-formuna dönüşmesi olabilir (85).

Bakteriyemi ile ilgili daha önceki çalışmalar incelendiğinde 1960 ve 1970'li yıllarda bakteriyemi etkenleri içinde ilk sırayı gram negatif bakteriler alırken, 1980'li yılların başından itibaren gram pozitif etkenlere bağlı bakteriyemi sıklığında da artış tespit edildi. Kan kültürlerinden izole edilen gram pozitif ve gram negatif bakteri oranlarını Kaya ve ark. %62.2 ve %37.8 , Sevim ve ark. %54 ve %41 , Yüce ve ark. %28.1 ve %59.3 , Durmaz ve ark. %31 ve %69 olarak bildirmişlerdir (30, 79, 80). Khalel ve ark. bu oranları %59.8 ve %40.1 , Garg ve ark. %67.5 ve %33.5 olarak tespit etmişlerdir (80). Çalışmamızda ise kan dolaşımı enfeksiyonuna neden

olan etkenler arasında %47.7 ile gram negatif bakteriler ilk sırayı alırken, gram pozitif bakteriler %44.2 ile ikinci sıklıkta izole edilen mikroorganizmalar oldu. Yapılan çalışmalar arasında tespit edilen bu farklı oranların hastanenin tip ve büyüklüğüne, bakteriyemiler içinde kateter ilişkili olanların oranına, bakteriyemiler içinde hastane enfeksiyonu olanların oranına, hastanede uygulanan antibiyotik tedavi protokollerine bağlı olarak değiştiği düşünülmektedir .

Bakteriyemi etkenlerini tespit etmek amacıyla yapılan çalışmalarda mantarların %3-20 arasında değişen oranlarda etken olarak izole edildiği bildirilmektedir. Çalışmamızda bu oran %7.1 olarak tespit edildi. Mantarların bu derece yüksek oranda tespit edilmesinde uzun süreli hastanede yatış, yoğun antibiyotik kullanımı, kateter kullanımı gibi nedenlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Hastanemizdeki mantar enfeksiyonlarına yanlış tedavi protokollerine bağlı uzun süreli hasta yatışlarının sebep olabileceği düşünüldü.

Kan kültürlerinden izole edilen gram pozitif bakterilerin çoğunu *S. aureus* ve KNS'ler oluşturmaktadır. *S. aureus* ve KNS'ler sırasıyla Yüce ve ark.'nın çalışmasında %13.9 ve %9.2, Sevim ve ark.'nın çalışmasında %24 ve %21 Demirbakan ve ark.'nın çalışmasında %14.7 ve %25.9, Bozkurt ve ark.'nın çalışmasında %21 ve %29 oranında tespit edilmiştir (43, 80, 87). Çalışmamızda ise KNS'ler gram pozitif bakteriler arasında en sık (%17.9) tespit edilen bakteriler olurken, *S. aureus* ise %17.1'lik oranda tespit edildi.

Kan kültürleri ile ilgili en karmaşık konu ise işlem esnasında şişeye dahil olan mikroorganizmaların gerçekten kan dolaşımı enfeksiyonu etkeni olup olmadığına karar vermektir. Kan kültürü örneklerinde kontaminasyon tespit edilme sıklığına baktığımızda bu oran Eren ve ark.'nın çalışmasında %2 , Köseoğlu ve ark.'nın çalışmasında %4.7, Sevim ve ark.'nın çalışmasında ise %10.5 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda ise bu oran %5.5 olarak tespit edildi (43, 88, 89). İdealde kontamine kan kültür oranının %2-3'ü geçmemesi gerektiği düşünüldüğünde hastanemizde kontaminasyon oranı yüksekti. Bunun sebebi olarak kan alma tekniğinde aseptik koşullara uyulmaması ve kanı alan personelin eğitim seviyesi ilgili problemler olduğu düşünüldü.

Kan kültürü pozitiflik zamanı, kan kültürlerinin inkübasyonundan otomatize sistemde pozitif sinyal algılanana kadar geçen süre olarak ifade edilir. Enfeksiyon etkeni patojenin daha erken saptanması, uygun ampirik tedavinin daha önce başlaması anlamına gelir.

Aerobik ve anaerobik kan kültür şişeleri kullanarak inkübasyon periyodunun ilk 72 saati içinde klinik açıdan anlamlı bakteri ve mantar izolatlarının %97.2 ve %94.9'u tespit edildi. Çalışmamızda ortalama pozitiflik zamanı aerob ve anaerob kan kültürü şişeleri için sırasıyla 18.5 ve 20.9 saattir. Daha önceki çalışmalarda ortalama pozitiflik zamanı aerob ve anaerob şişeler için 14.9 ve 18.0 saat, Tzong-shi ve ark. yaptığı çalışmada 19.0 ve 20.1 saattir (90, 91).

Chiueh ve ark.'nın (2012) yaptığı çalışmada BacT/Alert sisteminde aerobik ve anaerobik kan kültür şişelerinde üreyen *Enterobacteriaceae* izolatları incelenmiş (90). Her iki kan kültür şişesinde tespit edilen mikroorganizmalar arasında *Enterobacteriaceae* izolatları (*Serratia marcescens* hariç) anaerobik şişede aerobik şişeye göre daha erken tespit edilmiş. *Enterobacteriaceae* izolatlarının anaerobik şişelerdeki üreme zamanının kısa olması ve anaerob şişelerin bu konuda daha iyi performans göstermesi *Enterobacteriaceae* enfeksiyonlarının hızlı tanısı için çok değerli bulunmuş. *Enterobacteriaceae* ailesinin fakültatif anaerobik bakterilerden oluştuğu düşünüldüğünde bu bakterilerin oksijen varlığında canlı kalabilmesine karşın, anaerobik ortamda yaşamayı tercih ettiğini düşündürmüştür. Bizim çalışmamızda da bu sonuçlara benzer şekilde her iki şişede üreyen mikroorganizmalardan anaerob şişede aerob şişeye göre erken sinyal verenlerin çoğunluğunu *Enterobacteriaceae* grubu oluşturmuştur.

Aynı çalışmada *S.aureus*, KNS ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının büyük kısmı aerobik şişede daha erken tespit edilmiş. Aerobik şişelerde anaerobik şişelere kıyasla gram pozitif koklar (*S.aureus* ve enterokok hariç) non fermenter GNB ve mayalar daha iyi üremiştir. Bu mikroorganizmalar için aerobik şişelerin daha iyi performans göstermesi beklenildiği gibi şişedeki yüksek oksijen içeriği ile açıklanabilir (non fermenter GNB ve mayaların çoğunun zorunlu aerob olduğu göze alındığında).

Defrance ve ark. yaptıkları çalışmada, aerobik ve anaerobik kan kültür şişelerinde üreyen gram negatif basillerin ayırımında, kan kültürü pozitiflik zamanının tanı değerini araştırmışlar (92). Bu çalışmada anaerob şişede aerob şişeye göre erken pozitif sinyal veren gram negatif basiller için 18 saat ve altında pozitif sinyal süresinin, *Enterobacteriaceae* türlerinin diğer gram negatif basillerden ayırımı için yüksek duyarlılığa sahip olduğu vurgulanmış . Daha önce *Enterobacteriaceae*'nin *Pseudomonas aeruginosa*, zorunlu anaerob ve diğer gram negatif bakterilere nazaran daha hızlı ürediğini bildiren çalışmalar mevcuttu (91). Bizim çalışmamızda ise anaerob kan kültür şişelerinde üreyen *Enterobacteriaceae* ailesi için ortalama pozitiflik zamanı 15.1 saat, non fermenter gram negatif basiller için 25.9 saat ve zorunlu anaerob bakteriler için 95.9 saattir. *Enterobacteriaceae* enfeksiyonlarının hızlı tanısında pozitif sinyal süresi ve Gram boyamadaki karakteristik görünümlerinin yönlendirici olacağı düşünüldü. Çalışmamızdaki bulgularımız bu çalışmayla uyumlu olup anaerob şişelerde 15 saat içinde alınan pozitifliklerin, kan kültür şişelerinden yapılan gram boyamalarda gram negatif basil görülmesi durumunda *Enterobacteriaceae* enfeksiyonları için ampirik tedavi başlanması için yol gösterici olabileceği düşünüldü.

Pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinden yapılan gram boyama ve klinisyene iletilen ön raporlar, uygun antimikrobiyal tedavi gören bakteriyemik hastaların oranını önemli ölçüde artırır . Bouza ve ark. yaptığı çalışmada kan dolaşımı enfeksiyonlarında identifikasyon işlemi devam ederken mortalite oranının her geçen gün 1.2 kat arttığını bildirmiştir (54).

Kan kültürleri için gram boyamanın doğruluğuna ilişkin raporlar çok seyrek. Cunney ve ark. (1997) yaptığı çalışmada 132 kan kültürünün 7'sinde (%5) gram boyama sonuçları ile kültür sonuçları arasında bir tutarsızlık bildirmiş, Sogaard ve ark. yaptığı çalışmada ise 5892 kan kültürünün 119 unda (%2) başlangıçtaki Gram boyama ile kültür sonuçları arasında uyumsuzluk gözlenmiştir (93). Çalışmamızda ise 974 pozitif kan kültürünün 52'sinde (%5.3) gram boyama ve kültür uyumsuzluğu gözlenmiştir. Hatalı Gram boyama sonuçlarımıza yorum hataları ve aynı zamanda bazı bakterilerin karakteristik özelliklerinin sebep olduğu düşünüldü.

Klinik değişkenler düşünöldüğünde, kan örneklerinin hacmi ne kadar fazla olursa, kan dolaşımı enfeksiyonlarının saptanma verimi o kadar yüksek olur. Daha fazla hacim ile elde edilen verim, yetişkinlerde çoğu kan dolaşımı enfeksiyonunun düşük mikroorganizma yoğunluğuyla olması gerçeğinden kaynaklanmaktadır (Ortalama 1 kob/ml). Uygun kan hacmi CLSİ'nin önerilerine göre şişe başına 10 ml'dir. Çalışmamızda ise servislerden gelen ortalama kan kültür hacmi, şişe başına ortalama 4-5 ml idi. Daha düşük kan hacmiyle kan kültürlerinin yüksek verimi ise populasyon farklılığı ve kan kültürü alım zamanı ile alakalı olabilir.

Kan dolaşımı enfeksiyonlarının tespitinde farklı kan kültür sistemleri, kan kültür setleri ve şişe türlerinin performansı ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Son 20 yılda pozitif kan kültürlerindeki zorunlu anaerob bakterilerin sayısındaki azalma ve aerobik, fakültatif anaerobik ve maya izolatlarındaki artış nedeniyle bazı araştırmalarda anaerobik kan kültür şişelerinin kullanımının sadece jinekolojik ve kolorektal cerrahi prosedürü uygulanan hastalarla sınırlı olması gerektiği düşünölmüş (2, 32, 47). Bunun yerine daha sık görölen aerobik ve fakültatif anaerobik organizma ve mayaların saptanmasını arttırmak ve yetişkinlerden en az 20 ml kan ile kan kültürü yapılmasını sağlamak için ikinci bir aerob şişenin kullanımı önerilmektedir (32, 47). Ancak son zamanlarda yapılan bir çalışmada, iki aerobik şişe kullanılmasına kıyasla bir aerobik ve bir anaerobik şişeye yapılan ekimin mikroorganizmaların saptanmasında artış sağladığı bulunmuştur (53). Sadece aerobik şişelerin ya da daha geleneksel olan aerobik ve anaerobik şişe çiftinin kullanımı hâlâ tartışma konusudur (32, 48).

Passerini ve ark.'nın yaptığı çalışmada BACTEC Plus Aerobic/F ve BACTEC Plus Anaerobic/F kan kültür şişelerinde üreyen mikroorganizmalar üreme ve üreme zamanları açısından karşılaştırılmış (91). Kan dolaşımı enfeksiyonu şüphesiyle 2 yıl boyunca toplanan kan kültürlerinin sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiş. *Pseudomonas*, enterokok, KNS ve mayaların aerop şişelerde anaerop şişelere kıyasla daha iyi ürediği, bununla birlikte pozitif kan kültürlerinin %8 'inde aerobik bakterilerin sadece anaerobik koşullar altında ürediği gösterilmiş, bu durum aerobik ve anaerobik şişe çiftlerinden oluşın setlerin 2 aerobik şişe kullanımına göre daha fazla verim sağladığını düşündürmüştür. Artın verime

anaerobik ortam kullanımı gibi artan örnek hacmide sebep olmuş olabilir. Yapılan başka bir çalışmada ise pozitif kan kültürlerinin yaklaşık %13.7 sinin sadece anaerob kan kültür şişesinde ürediği ve bu izolatların 2/3 ünün aerobik bakteriler olduğu tespit edilmiş (94). Çalışmamızda pozitif kan kültürlerinde üreyen klinik açıdan anlamlı 631 mikroorganizmadan 70'i (%11) sadece anaerobik şişede üredi. Bu da anaerob şişelerin kullanımının sadece zorunlu anaerob bakterilerin tespitiyle sınırlı olmadığını düşündürmüştü, BACTEC Plus Aerobic/F ve BACTEC Plus Anaerobic/F kan kültür şişe kombinasyonu kullanımının anaerob şişede üreyen aerobik mikroorganizmaların da tespitine olanak sağladığını göstermiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1- Çalışmada, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2016 ile Aralık 2016 tarihleri arasında gelen 8178 otomatize erişkin kan kültür şişesi değerlendirilmiştir.
- 2- Kan kültürlerinde üreme oranı %11.9 bulunmuştur.
- 3- Kan kültürlerinde klinik olarak anlamlı üreme oranı % 6.3 bulunmuştur.
- 4- Yalancı pozitiflik oranı %0.2'dir.
- 5- Yalancı negatiflik oranı %0.06'dır.
- 6- Kan kültür şişelerinde üreyen klinik açıdan anlamlı izolatların %11'inde sadece anaerob şişede üreme gözlenmiştir.
- 7- Kullanılan kan kültür şişeleri arasında Plus Anaerobic/F şişesinin Plus Aerobic/F şişesine göre *Enterobacteriaceae* izolatlarını daha hızlı ve yüksek oranda tespit ettiği bulunmuştur.
- 8- Servislerden gönderilen kan kültürlerinin ortalama hacimleri, mikrobiyoloji rehberlerinin önerdiği oranının çok altındaydı. Bu durumun pozitif kan kültür oranını önemli derecede etkilediği düşünüldü.
- 9- Kan kültürü kontaminasyon oranı yüksekti (%5.5). Pozitif kan kültürlerinin yaklaşık yarısını oluşturan kontaminantların tanı güçlüğü yarattığı ve kliniklerde periyodik eğitimlerle kontaminasyon oranının azaltılabileceği düşünüldü.
- 10- Laboratuvarımıza gelen kan kültürlerinin %72.7'si bir aerob ve bir anaerob şişeden oluşan set şeklindeyken %27.3'ü ise tek aerobik şişe halinde gelmiştir.
- 11- Kan kültürlerinde pozitif sinyal süresi ve etken saptama oranları temel alınarak, yeterli kan hacmi ve bir aerobik bir de anaerobik kan kültür şişe kombinasyonu ile kan kültürü gibi çok önemli ve bir tanı aracının daha verimli kullanılacağını umuyoruz.

KAYNAKLAR

1. Reimer LG., Wilson ML., Weinstein MP. Update of Bacteremia and Fungemia. *Clinical Microbiology Reviews*. 1997; 10: 444-465.
2. Koneman E., Winn Jr W., Allen S., Janda W., Procop G., Schreckenberger P., Woods G. Infections of Blood. In: *Konemans Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* . Sixth edition. USA: Lippincott Williams Wilkins; 2006. p. 97-110.
3. Trevino S., Ross D. Bacteremia and Sepsis. In: *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases, Textbook of Diagnostic Microbiology* (ed. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G). Third edition. Saunders Elsevier; 2007. p. 995-1008.
4. Doğanay M. Sepsis. In: *İnfeksiyon Hastalıklarında*. (ed. Willke TopçuA., Söyletir G., Doğanay M.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1996. s. 473-486.
5. Carvalho PRA., Trotta EA. Advances in Sepsis Diagnosis and Treatment. *Journal Pediatr*. 2003; 79: 195-204.
6. Urgancı K., Sayek İ. Sepsis ile ilgili tanımlamalar. *Yoğun bakım dergisi*. 2005; 5(2): 75-79
7. Mylotte JM., Tayara A. Blood culture: Clinical Aspects and Controversies. *European Journal Clinical Microbial Infectious Diseases*. 2000; 19 (3): 157-163.
8. Tabriz MS., Riederer K., Baran Jr J., Khatib R. Repeting Blood Cultures During Hospital Stay: Practice Pattern at a Teaching Hospital and Proposal for Guidelines. *Clinical Microbiology and Infection*. 2004; 10: 624-627.
9. Gonsalves WL., Cornish N., Moore M., Chen A., Varman M. Effects of Volume and Site of Blood Draw on Blood Culture Results. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009; 47: 3482-3485.
10. Jansen GJ, Mooibroek M, Idema J, Harmsen HJM, Welling GW, Degener JE. Rapid İdentification of Bacteria in Blood Cultures by Using Fluorescently Labeled Oligonucleotide Probes. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000; 38: 814-817.
11. Mancini N., Corletti S., Ghidoli N., Cichero P., Bruoni R., Clementi M.

- The Era of Molecular and Other Non-Culture-Based Methods in Diagnosis of Sepsis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2010; 23: 235-251.
12. Venkatesh M, Flores A, Luna RA, Versalovic J. Molecular Microbiological Methods in the Diagnosis of Neonatal Sepsis. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2010; 8(9): 1037-1048.
 13. Ortiz E., Sande MA. Routine Use of Anaerobic Blood Cultures: Are They Still Indicated? *The American Journal of Medicine*. 2000; 108: 445-447.
 14. Forbes BA., Sohm DF., Weissfeld AS. Bloodstream Infections. In: Bailey and Scott's *Diagnostic Microbiology*. Twelfth Edition. USA: Mosby; 2007. p. 778-797.
 15. Pien BC., Sundaram P., Raoof N., Costa SF., Mirrett S., Woods CW., Reller LB., Weinstein MP. The Clinical and Prognostic Importance of Positive Blood Cultures in Adults. *The American Journal of Medicine*. 2010; 123(9): 819-828.
 16. Previsdomini M., Gini M., Cerutti B., Dolina M., Peren A. Predictors of Positive Blood Cultures in Critically Ill Patients: A Retrospective Evaluation. *Clinical Science CMJ*. 2012; 53: 30-39.
 17. Paolucci M., Landini MP., Sambri V. Conventional and Molecular Techniques for the Early Diagnosis of Bacteraemia. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2010; 36S: 6-16.
 18. Siegman-Igra Y., Fourer B., Orni-Wasserlauf R., Golan Y., Noy A., Schwartz D. Reappraisal of Community-Acquired Bacteremia: A Proposal of a New Classification for the Spectrum of Acquisition of Bacteremia. *Clinical Infectious Diseases*. 2002; 34: 1431-1439.
 19. Plaller MA, Diekema DJ. Twelve Years of Fluconazole in Clinical Practice: Global Trends in Species Distribution and Fluconazole Susceptibility of Bloodstream Isolates of *Candida*. *Eur Soc C in Microbiol Infectious Disease*. 2004; IO(Suppl I): II.
 20. Seifert H. The Clinical Importance of Microbiological Findings in the Diagnosis and Management of Bloodstream Infections. *Clinical Infectious Disease*. 2009; 48: 238-245.

21. Karchmer Aw., Boyer As. Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus*: An Evolving Clinical Challenge. *Clinical Infectious diseases*. 2008; 46: 342-343.
22. Keuehnert MJ., Hill HA., Kupronis BA., Tokers JL., Solomon SL., Jernigen DB. Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus* Hospitalizations, United States. *Emerging Infectious Diseases*. 2005; 11(6): 868-872
23. Tacconelli E., Karchmer AW., Yokoe D., Agota E. Preventing the Influx of Vancomycin Resistant Enterococci into Health Care Institutions, by Use of a Simple Validated Prediction Rule. *Clinical Infectious Diseases*. 2004; 39: 964-970.
24. Chen YM., Hsueh PR. Changing Bacteriology of Abdominal and Surgical Sepsis. *Current Opinion Infectious Diseases*. 2012; 25(5): 590-595.
25. Weinstein MP., Towns ML., Quartey SM., Mirrett S., Reimer LG., Parmigiani G., Reller LB. 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. *Clinical Infectious Disease*. 1997; 24: 584-602.
26. Hall KK., Lyman JA. Updated Review of Blood Culture Contamination. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006; 19: 788-802.
27. Cosgrove SE., Sakoulas G., Perencevich EN., Schwaber J., Karchmer AW. Comparison of Mortality Associated with Methicilin Resistant and Methicilin Susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: A Meta-Analysis. *Clinical Infectious diseases*. 2003; 36: 53-59.
28. Akalın H. Sepsis: Tanımlar, Tanı, Etiyoloji ve Epidemiyolojide Yeni Gelişmeler. III. Ulusal Yoğun Bakım Enfeksiyonları Sempozyumu. 2007.
29. Gdoura R., Pereyre S., Frikha I., Hammami N., Clerc M., Sahnoun Y., Bebear C., Daoud M., Barbeyrac B., Hammami A. Culture-Negative Endocarditis Due to *Chlamydia Pneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002; 40: 718-720.
30. Durmaz G., Us T., Aydınlı A., Kiremitçi A., Kiraz N., Akgün Y. Optimum Detection Times for Bacteria and Yeast Species with the BACTEC 9120

- Aerobic Blood Culture System: Evaluation for a 5 Year Period in a Turkish University Hospital. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003; 41: 819-821.
31. Thorpe TC., Wilson ML., Turner JE., Diguisseppi JL., Willert M., Mirrett S., Reller LB. BacT/Alert: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. *Journal of Clinical Microbiology*. 1990; 28: 1608-1612.
 32. Carroll KC., Weinstein MP., Çeviren: Gülşen Haşçelik. Mikroorganizmaların Saptanması ve Tanımlanmasında Manuel ve Otomatik Sistemler. *Klinik Mikrobiyoloji, Manuel of Microbiolgy* (ed. Murray PR, Baron EJ, Jaroensen JH, Landry ML, Pfaller MA, Çeviri Editörü: Ahmet Başustaoğlu). 9. baskı. Atlas Kitapçılık; 2008. s. 192-196.
 33. Klouche M., Schröder U. Rapid Methods for Diagnosis of Bloodstream Infections. *Clin. Chem. Lab. Med.*. 2008; 46(7): 888-908.
 34. Peters RPH., Agtmael MA., Danner SA., Savelkoul PHM., Vandembroucke-Grauls CMJE. New Developments in the Diagnosis of Bloodstream Infections. *Lancet Infectious Diseases*. 2004; 4: 751-760.
 35. Wayne PA. Principles and procedures for blood cultures. Approved Guideline. CLSI, M47-A. 2007; 27: 17.
 36. Ziegler R., Johnscher I., Martus P., Lenhardt D., Just HM. Controlled Clinical Laboratory Comparison of Two Supplemented Aerobic and Anaerobic Media Used in Automated Blood Culture Systems to Detect Bloodstream Infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 1998; 36: 657-661.
 37. Çiçek A., Kuzucu Ç., Durmaz B. Kan Kültürü Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Etkili Olan Faktörler. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2005; 12(4): 277-280.
 38. Mylotte JM., Tayara A. Blood culture: Clinical Aspects and Controversies. *European Journal Clinical Microbial Infectious Diseases*. 2000; 19 (3): 157-163
 39. Cockerill III FR., Wilson JW., Vetter EA., Goodman KM., Torgerson CA., Harmsen WS., Schleck CD., Ilstrup DM., Washington II JA., Wilson WR. Optimal Testing Parameters for Blood Cultures. *Clinical Infectious Diseases*. 2004; 38: 1724-1730.

40. Baron EJ, Jaroensen JH, Landry ML, Pfaller MA, Çeviri Editörü: Ahmet Başustaoğlu). 9. baskı. Atlas Kitapçılık. Ankara. 2006. s. 192-196.
41. Isaacmen DJ., Karasic RB., Reynolds EA., Kost SI. Effect of Number of Blood Cultures and Volume of Blood on Detection of Bacteremia in Children. *The Journal of Pediatrics*. 1996; 128: 190-195.
42. Pien BC., Sundaram P., Raoof N., Costa SF., Mirrett S., Woods CW., Reller LB., Weinstein MP. The Clinical and Prognostic Importance of Positive Blood Cultures in Adults. *The American Journal of Medicine*. 2010; 123(9): 819-828.
43. Sevim S., Öztürk Ş., Çoşkuner A., Özgenç O., Avcı M. Bactec Kan Kültür Sistemi ile İzole edilen Mikroorganizmaların Değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*. 2007; 21(3): 135-140.
44. Towns ML., Jarvis WR., Hsueh P. Guidelines on Blood Cultures. *Journal of Microbiology, İmmunology and Infection*. 2010; 43(4): 347-349.
45. Roh KH., Kim JY., Kim HN., Lee HJ., Sohn JW., Kim MJ., Cho Y., Kim YK., lee CK. Evaluation of BACTEC Plus Aerobic and Anaerobic Blood Culture Bottles and BacT/Alert FAN Aerobic and Anaerobic Blood Culture Bottles for the Detection of Bacteremia in ICU Patients. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2012; 73: 239-242.
46. Grohs P., Mainardi JL., Podglajen I., Hanras X., Eckert C., Buu-Hoi A., Varon E., Gutmann L. Relevance of Routine Use of the Anaerobic Blood Culture Bottle. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007; 45: 2711-2715.
47. James PA., Al-Shafi KM. Clinical Value of Anaerobic Blood Culture: A Retrospective Analysis of Positive Patient Episodes. *Journal of Clinical Pathology*. 2000; 53: 231-233.
48. Weinstein MP., Doern GV. A Critical Appraisal of the Role of the Clinical Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Bloodstream Infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; 49: 26-29.
49. Bourbeau PP., Pohlman JK. Three Days of Incubation May Be Sufficient for Routine Blood Cultures with BacT/Alert FAN Blood Culture Bottles. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001; 39: 2079-2082.

50. Reisner BS., Woods GL. Times to Detection of Bacteria and Yeasts in BACTEC 9240 Blood Culture Bottles. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999; 37: 2024-2026.
51. Bourbeau PP., Foltzer M. Routine Incubation of Bact/Alert FA and FN Blood Culture Bottles for More than 3 Days May Not Be Necessary. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43: 2506-2509.
52. Lee A., Mirrett S., Reller LB., Weinstein MP. Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures are Needed?. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007; 45: 3546-3548.
53. Patel R., Vetter EA., Harmsen WS., Schleck CD., Fadel HJ., Cockerill III FR. Optimized Pathogen Detection With 30- Compared to 20- Milliliter Blood Culture Draws. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; 49: 4047- 4051.
54. Bouza E., Sousa D., Rodriguez-Creixems M., Lechuz JG., Munoz P. Is the Volume of Blood Cultured Still a Significant Factor in the Diagnosis of Bloodstream Infections?. *Journal of clinical Microbiology*. 2007; 45: 2765-2769.
55. Sümerkan B. Nosokomiyal Sepsis: Etyoloji ve Mikrobiyolojik Tanısı. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*. 1998; 2: 182-187.
56. Riedel S., Bourbeau P., Swartz B., Brecher S., Carroll KC., Stamper PD., Dunne WM., McCardle T., Walk N., Fiebelkorn K., Sewell D., Richter SS., Beekmann S., Doern GV. Timing of Specimen Collection for Blood Cultures from Febrile Patients with Bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46: 1381-1385.
57. Tabriz MS., Riederer K., Baran Jr J., Khatib R. Repeting Blood Cultures During Hospital Stay: Practice Pattern at a Teaching Hospital and Proposal for Guidelines. *Clinical Microbiology and Infection*. 2004; 10: 624-627.
58. Saito T., Inuma Y., Takakura S., Fujihara N., Kudo T., Ichiyoma S. Can BacT/Alert FA and FN Blood Culture Bottles Increase the Recovery of Microorganisms in the Clinical Laboratory?. *Journal Infec. Chemother*. 2004; 10: 343-347.

59. Mirrett S., Joyce MJ., Reler LB. Validation of Performance of Plastic Versus Glass Bottles for Culturing Anaerobes from Blood in Bact/Alert SN Medium. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43: 6150-6151.
60. Petti CA., Mirrett S., Woods CW., Reler LB. Controlled Clinical Comparison of Plastic and Glass Bottles of BacT/ALERT FA Medium for Culturing Organisms from Blood of Adult Patients. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43: 1960-1962.
61. Daxboeck F., Dornbusch HJ., Krause R., Assadran O., Wenisch C. Verification of false-positive Blood Culture Results Generated by the BACTEC 9000 Series by Eubacterial 16s rDNA and Panfungal 18r rDNA Directed Polymerase Chain Reaction (PCR). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2004; 48:1-3.
62. Qion Q., Tang YW., Kolbert CP., Torgerson CA., Hughes JG., Vetter EA., Harmsen WS., Montgomery SO., Cockerill III FR., Persing DH. Direct Identification of Bacteria from Positive Blood Culture by Amplification and Sequencing of the 16s rRNA Gene: Evaluation of BACTEC 9240 Instrument True-Positive and False-Positive Results. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001; 39: 3578-3582.
63. Nolte FS., Williams JM., Jerris RC., Morello JA., Leitch CD., Matushek S., Schwabe LD., Dorigan F., Kocka FE. Multicenter Clinical Evaluation of a Continuous Monitoring Blood Culture System Using Fluorescent-Sensor Technology (BACTEC 9240). *Journal of Clinical Microbiology*. 1993; 31: 552-557.
64. CLSI. Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
65. Weinstein MP., Towns ML., Quartey SM., Mirrett S., Reimer LG., Parmigiani G., Reler LB. 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. *Clinical Infectious Disease*. 1997; 24: 584-602.

66. Lamy B., Seifert H.: "Septicemia," G. Cornaglia, R. Courcol, JL. Hermann, G. Kahlmeter, HP. Lefeuille, J. Vila (eds): *European Manual of Clinical Microbiology*" 2012. s. 101-110,
67. Obara H., Aikawa N., Hasegawa N., Hori S., Ikedo Y., Kobayashi Y., Murata M., Okamoto S., Takeda J., Tarabe M., Sakakura Y., Ginbo M., Kitajima M., Kitagoura Y. The Role of a Real-Time PCR Technology for Rapid Detection and Identification of Bacterial and Fungal Pathogens in Whole-Blood Samples. *Journal Infectious Chemother.* 2011; 17: 327-333.
68. Erbay A., Sayılır K., Çolpan A., Akıncı E., Balaban N., Bodur H. Kan Kültürlerinde Üreme saptanan 380 Olgunun Değerlendirilmesi. *Klinik Dergisi.* 2003; 16: 25-30.
69. Gaibani P., Rossini G., Ambretti S., Gelsomino F., Pierro AM., Varani S., Paolucci M., Landini MP., Sambri V. Blood Culture Systems: Rapid Detection-How and Why?. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2009; 34S: 513-515.
70. Bauer M., Reinhart K. Molecular Diagnostics of Sepsis-Where are We Today?. *International Journal of Medical microbiology.* 2010; 300:411-413.
71. Wallet F., Nseir S., Baumann L., Herwegh S., Sendid B., Boulo M., Roussel-Delvallez M., Durocher AV., Courcol RJ. Preliminary Clinical Study Using a Multiplex Real-time PCR Test for the Detection of Bacterial and Fungal DNA Directly in Blood. *Clinical Microbiology and Infection.* 2010; 16: 774-779.
72. Pletz MW., Wellinghousen N., Welte T. Will Polymerase Chain Reaction (PCR)-Based Diagnostics Improve Outcome in Septic Patients? A Clinical View. *Intensive Care Medicine.* 2011; 37: 1069-1076.
73. Bloos F., Sochse S., Kortgen A., Pletz MW., Lehmann M., Straube E., Riedemann NC., Reinhart K., Bauer M. Evaluation of a Polymerase Chain Reaction Assay for Pathogen Detection in Septic Patients under Routine Condition: An Observational Study. *Plos One.* 2012; 7:9.
74. Tsalik EL., Jones D., Nicholson B., Waring L., Liesenfold O., Park LP.,

- Glickman SW., Caronn LB., Langley RJ., Velkingburg JC., Coirns CB., Rivers EP., Otero RM., Kingsmore SF., Lalani T., Fowler VG., Woods CW. Multiplex PCR to Diagnose Bloodstream Infection in Patients Admitted from the Emergency Department with Sepsis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010; 48: 26-33.
75. Dierkers C., Ehrenstein B., Siebig S., Linde HJ., Reishl U., Salzburger B. Clinical impact of a Commercially Available Multiplex PCR System for Rapid Detection of Pathogens in Patients with Presumed Sepsis. *BMC Infectious Diseases*. 2009; 9: 126.
76. Hettwer S, Wilhelm J., Schürmann M., Ebelt H., Hammer D., Amoury M., Hofmann F., Oehme A., Wilhelms D., Kekule AS., Klöss T., Werdan K. Microbial Diagnostics in Patients with Presumed Severe Infection in the Emergency Department. *Springer-Verlog*. 2011; 48: 517-526.
77. Wolk DM., Dunne WM. New Technologies in Clinical microbiology. *Journal of Clinical microbiology*. 2011; 49: 62-67.
78. Sucu N.,Çaylan R., Aydın K., Yılmaz G., Boz GA., Köksal İ. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Kan Kültürlerinin Prospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 2005; 39: 455-464.
79. Kaya S, Arıdoğan B, Çetin H, Demirci M. Çocuk hastalardan alınan kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik dirençleri. *Fırat Tıp Dergisi*. 2007; 12 (1): 34-36.
80. Yüce P, Demirdag K, Kalkan A, Özden M, Denk A, Kılıç SS. Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 2005; 19(1): 17-21.
81. Luzzaro F., Vigano EF., Fossati D., Grossi A., Sala A., Sturla C., Saudelli M., Toniola A. Prevalence and Drug Susceptibility of Pathogens Causing Bloodstream Infections in Northern Italy; A Two-Year Study in 16 Hospitals. *European Journal Clinical Microbiology Infectious Diseases*. 2002; 21(12): 840-855.

82. Mehdinejad M, Khosravi AD, Morvaridi A. Study of prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of bacteria isolated from blood cultures. *Journal of Biological Sciences* 2009; 9: 249-253.
83. Smith JA., Bryce EA., Ngui-Yan JH., Roberts FJ. Comparison of BACTEC 9240 and BacT/Alert Blood Culture Systems in a Adult Hospital. *Journal of Clinical Microbiology*. 1995; 33: 1905-1908.
84. Marlowe EM., Hogan JJ., Hindler JF., Andruszkiewicz I., Gordon P., Bruckner DA. Application of an rRNA Probe Matrix for Rapid Identification of Bacteria and Fungi from Routine Blood Cultures. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003; 53: 1247-1253.
85. Fredricks DN., Relman DA. Improved Amplification of Microbial DNA from Blood Cultures by Removal of the PCR Inhibitor Sodium Polyanetolsulfonate. *Journal of Clinical Microbiology*. 1998; 36: 2810-2816.
86. Garg A, S Anupurba, Garg J, RK Goyal, MR Sen. Bacteriological profile and antimicrobial resistance of blood culture isolates from a university hospital. *JACM*. 2007; 8(2): 139-43.
87. Kurtoğlu MG., Bozkurt H., Tuncer O., Keşli R., Berktaş M. Distribution, Optimal Detection Time and Antimicrobial Susceptibility Rates of The Microorganisms Isolated from Blood Cultures over a 4-Year Time Period in a Turkish University Hospital and a Review of The International Literature. *The Journal of International Medical Research*. 2008; 36: 1261-1272.
88. Eren N, Tunçbilek S, Öztürk S. Pozitif kan kültürlerinin hasta kliniği ile birlikte değerlendirilmesinin önemi. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya. Program ve Özet Kitabı. 1996. s. 147.
89. Köseoğlu Ö, Öztoklu I, Tezcan S, Hařelik G, Güralp A. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi Erişkin Hastanesi kan kültürlerinin mikrobiyolojik ve klinik değerlendirilmesi. *Infek Derg* 2000; 14: 387-92.

90. Chiueh T, Lee S, Tang S, Lu J, Sun J. Graduate Institute of Clinical Medical Science, China Medical University, Taichung, Taiwan. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2013; 27: 113–120.
91. Passerini R, Cassatella M, Salvatici M, Bottari F, Mauro C, Radice D, Sandri M. Recovery and time to growth of isolates in blood culture bottles: Comparison of BD Bactec Plus Aerobic/F and BD Bactec Plus Anaerobic/F bottles, Scandinavian. *Journal of Infectious Diseases*. 2014; 46: 288-293.
92. Defrance G, Birgand G, Ruppé E, Billard M, Ruimy R, Bonnal C, Andremont A, Armand-Lefèvre L. Time-to-positivity-based discrimination between *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and strictly anaerobic Gram-negative bacilli in aerobic and anaerobic blood culture vials. *Journal of Microbiological Methods*. 2013; 93: 77–79.
93. Søggaard M, Nørgaard M, Schønheyder H. First Notification of Positive Blood Cultures and the High Accuracy of the Gram Stain Report. *J Clin Microbiol*. 2007; 45: 1113–1117.
94. Grohs P, Mainardi J, Podglajen I, Hanras X, Buu-Hoi A, Varon E, Gutmann L. Relevance of Routine Use of the Anaerobic Blood Culture Bottle. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007; 45: 2711-2715.

