



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**OTOLOG PERİFERİK KÖK HÜCRE TRANSPLANTINDA NAKİL
GÜNÜ ÇALIŞILAN ÜRÜN KAN KÜLTÜRLERİNİN RETROSPEKTİF
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Beyza ATAY

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2019



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**OTOLOG PERİFERİK KÖK HÜCRE TRANSPLANTINDA NAKİL
GÜNÜ ÇALIŞILAN ÜRÜN KAN KÜLTÜRLERİNİN RETROSPEKTİF
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Beyza ATAY

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Fahir ÖZKALEMKAŞ

BURSA – 2019

İÇİNDEKİLER

Özet	ii
İngilizce Özet	iv
Giriş ve Genel Bilgiler	1
Hematopoetik Kök Hücre Nakli	1
Hematopoetik Kök Hücre Kaynakları	3
Hematopoetik Kök Hücre Toplanması	6
Hematopoetik Kök Hücre Toplanmasında Mikrobiyal Kontaminasyon	10
Gereç ve Yöntem	19
Bulgular	23
Tartışma	25
Sonuç	29
Kaynaklar	31
Teşekkür	34
Özgeçmiş	35

ÖZET

Kontaminasyon açısından mikrobiyolojik tarama hematopoetik kök hücre (HKH) toplanması ve infüzyon prosedürünün bir parçasıdır. HKH'nin mikrobiyal kontaminasyonu nadirdir fakat nakil aşamasında potansiyel olarak ölümcül komplikasyonlara neden olabilir. Literatürde üründe bakteriyel kontaminasyon %2-7 civarında bildirilmektedir.

Çalışmada HKH ürünlerinin infüzyon aşaması sırasında mikrobiyal kontaminasyon oranının saptanması ve aynı zamanda kontamine ürünlerle nakil yapılan hastaların klinik seyirlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda mart 2009 ve eylül 2017 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Kliniği Kemik İliği Nakil Ünitesinde otolog kök hücre nakli (OKHN) gerçekleştirilen 228 hasta retrospektif olarak tarandı. Toplam 216 olguda nakil günü ürün kültürü çalışılmıştı.

Olguların %54'ü erkek, %46'sı kadın; 18-60 yaş arası %65, >60 yaş %35 idi. Tanıları değerlendirildiğinde multiple myelom %75, non-hodgkin lenfoma %11, hodgkin lenfoma %13, plazma hücreli lösemi %1 idi. Bakteriyel kontaminasyon 216 örnekten 6'sında (%2,7) tespit edildi. Beşi *Staphylococcus epidermidis*, biri *Kocuria varians* idi. Hematopoetik kök hücre nakli sırasında bu 6 hastada febril nötropenik atak gözlenmedi ve hiç birinde kontamine kök hücre ürünüde bulunanlarla aynı ya da farklı bir patojen kontrol kan kültürlerinde tespit edilmedi. Yine bu hastaların hiçbiri nakil sonrası 30 gün içinde sepsis nedeniyle kaybedilmedi. Kontamine ve nonkontamine ürünlerle nakil olan hastalarda ateş, engraftman kinetiği gibi kriterlerde anlamlı fark saptanmadı.

Çalışmamızda *S. epidermidis* kontaminasyonlarının giriş yolunun kateter kaynaklı veya üründen örnek alma sırasında olabileceği; *Kocuria varians* kontaminasyonunun ise dış çevre ve deri florası kaynaklı olabileceği düşünüldü. Literatürde pozitif kültürlerin çoğu deri florası ve dış çevre kaynaklı kontaminasyonlardır. Çalışmamızda periferik kök hücre aferezi işlemlerinde mevcut kontaminasyon insidansının kabul edilir düzeyde olduğu görülmüştür.

OKHN güvenli bir şekilde toplansa da kriyoprezervasyon ve eritilmesi sırasında el hijyeninin korunması, işlem öncesi ve sonrası el hijyeni sağlanmasının gerekliliği, personelin eğitimi, eğitimin devamlılığının sağlanması önemlidir. Kök hücre ürünlerinin kontaminasyon riskini en aza indirmek için hekim ve laboratuvar personeli sürekli çaba içinde olmalıdır. Kontaminasyon oranlarının düşürülmesinde aferez ekibinin eğitiminin ve bilinçlendirilmesinin, infeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanmasının rolü büyüktür.

Anahtar Kelimeler: otolog kök hücre, transplantasyon, kontaminasyon.



SUMMARY

RETROSPECTIVE EVALUATION OF PRODUCT BLOOD CULTURES THAT TESTED ON TRANSPLANTATION DAY IN AUTOLOGOUS PERIPHERAL STEM CELL TRANSPLANTATION

Microbiological screening for contamination is part of the haematopoietic stem cell collection and infusion procedure. Microbial contamination of hematopoietic stem cells (HSC) is rare but can lead to potentially lethal complications during transplantation. Bacterial contamination in the literature is reported in 2-7% of the cases.

In the study, it was aimed to determine the microbial contamination rate of HSC products during the infusion phase and to evaluate the clinical course of patients transplanted with contaminating products at the same time.

This study was conducted retrospectively in Uludağ University, School of Medicine, Hematology Department, Bone Marrow Transplantation Unit. We included 228 patient who had been transplanted in our clinic with autologous hematopoietic stem cells in between March 2009 and September 2017.

Fifty four percent of the subjects were male and 46% were female; 65% were between 18 and 60 and 35% were older than 60 years of age. Diagnosis-wise distribution of study subjects in descending order was; multiple myeloma 75%, hodgkin lymphoma 13%, non-hodgkin lymphoma 11% and plasma cell lymphoma 1%. Bacterial contamination was detected in 6 (2,7%) out of 216 samples, five of these contaminating agents were Staphylococcus epidermidis and one of them was Kocuria varians. Non of these 6 patients who were transplanted with contaminated stem cell product had presented with febrile neutropenia during transplantation procedure and control blood culture studies were not positive for contaminating agents nor any other pathogens. Furthermore non of these 6 patients were lost due to sepsis within the first 30 day period following transplantation. Also there was no significant difference

in criteria related to fever and engraftment kinetics between patients transplanted with contaminated stem cell products and patients transplanted with non-contaminated stem cell products.

In our study, the contamination of *S. epidermidis* may be the entryway - during catheter-based or urine sampling; *Kocuria varians* contamination is thought to be caused by external environment and skin flora. Most positive cultures in the literature are skin flora and contamination from external environment. In our study, the incidence of current contamination in peripheral stem cell apheresis procedures was found to be acceptable.

It is important that the autologous peripheral blood stem cell is collected safely, that the hand hygiene should be protected during cryopreservation and dissolution, hand hygiene must be provided before and after the procedure, staff training and continuity of training should be ensured. Physicians and laboratory staff must make continuous efforts to minimize the risk of contamination of stem cell products. The reduction of contamination rates has a major role in the training and awareness of the apheresis team and the implementation of infection control measures.

Key words: autologous peripheral stem cell, transplantation, contamination.

GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

1. Hematopoetik Kök Hücre Nakli

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN) vericinin tipine göre allojeneik, otolog ve sinjeneik şeklinde adlandırılmaktadır. Allojeneik kök hücre naklinde (AKHN) sağlıklı bir vericiden toplanan kök hücreler hastaya nakil edilirken; otolog kök hücre naklinde (OKHN) ise hastanın kendi hücrelerinin toplanıp saklanması ve yüksek doz kemoterapiden sonra hastaya damar yoluyla verilmesi söz konusudur. OKHN için periferik kan veya kemik iliği kök hücreleri kullanılabilir. Sinjeneik nakil ise tek yumurta ikizinden yapılan nakildir. Kök hücre transplantasyonunda temel unsurlardan biri kök hücrelerin otolog veya allojeneik HKH kaynağı olarak kullanılıp kullanılmayacağıdır. OKHN genel durumu iyi bireylerde güvenli olarak yapılabilmektedir ve AKHN'e göre daha düşük ölüm oranları ve ılımlı bir morbiditeye sahiptir. OKHN'nde, hastanın uygun dönemde yani altta yatan hastalık düzelmiş iken ya da stabil iken; kök hücreler mobilize edilir, toplanır, dondurulur ve saklanır. Transplantasyon gününde ise hücreler çözülerek hastaya geri verilir. Yapılan işlem "otolog kök hücre desteğinde yüksek doz tedavi" olarak adlandırılmaktadır.

1.1. Otolog Kök Hücre Nakli (OKHN)

OKHN hasta bireyden periferik yolla kök hücrelerin toplanması ve uygun damar yolundan tekrar kendisine verilmesi işlemidir. Bu işlem otograflama olarak da bilinmektedir. OKHN bugün Hodgkin ve Hodgkin dışı lenfomalarda, multiple myelomda, germ hücreli tümörlerde, nöroblastom gibi pediatrik hastalıklarda yüksek doz tedaviye destek amaçlı uygulanmaktadır.

Kanda bulunan kök hücrelerin kemik iliğinden kana geçiş miktarının artırılmasıyla kandaki kök hücre miktarı da artmaktadır. OKHN'nde hastaya nakil öncesi yüksek doz kemoterapi (hazırlık rejimi) verilmektedir. OKHN'de hazırlık rejimi alıcıda maksimum antitümör etki elde edilmesi amacını taşımakta ve doz cevap eğrisi doğrusal tümörlerde kullanılmaktadır.

OKHN'de hastaların yaşı, öncesinde aldıkları kemoterapi yoğunluğu, kemoterapötiklerin cinsi (özellikle melfalan ve fludarabin), radyoterapi (RT) uygulanıp uygulanmadığı, hastalığın durumu (remisyon, refrakter, progresif)

gibi çok sayıda faktör nötrofil ve trombosit engraftmanı gibi engraftman kinetikleri üzerinde etkisi olsa da en önemli etkenin verilen CD34+ kök hücrelerin sayısı olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu nedenle hangi rejimin kök hücre toplama üzerine daha fazla etkili olduğunu saptamak amacı ile çok sayıda çalışma yapılmıştır. OKHN toplama rejimleri merkezler arasında farklılık göstermekle birlikte, genellikle kemoterapi ile birlikte büyüme faktörü veya yalnızca büyüme faktörü içeren protokoller kullanılmaktadır (1).

Mobilizasyon işleminden sonra kandan kök hücreler aferez cihazlarıyla toplanmaktadır. Toplama işlemine periferik kanda lökosit miktarı en az $1,0 \times 10^9/L$ olduğunda başlanmaktadır. OKHN için toplanan kök hücreler dondurularak saklanmak zorundadır. Eğer nakil işlemi en geç 72 saat içinde yapılacaksa kök hücreler $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de saklanabilir. Fakat nakil daha geç bir zamanda yapılacaksa kök hücrelerin dondurularak saklanması gerekir. Böylece hücrelerin uzun yıllar boyunca canlılık özelliklerini yitirmeden saklanabilmeleri sağlanır (2).

Türkiye'de ilk OKHN 1992 yılı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılmış olup, günümüze kadar artan bir biçimde devam etmektedir (2).

1.1.1. Kök Hücreler

Kök hücreler vücudumuzda dokuları, organları oluşturan ana hücrelerdir. Henüz farklılaşmamış olan bu hücreler sınırsız bölünebilme ve kendini yenileme, organ ve dokulara dönüşebilme yeteneğine sahiptir. Bu hücreler aynı zamanda kendini yenileme yeteneğine de sahiptir. Bu özellikle doku yenilenmesi tedavileri için önem arz etmektedir.

Kök hücre tedavileri diyabet, organ yetmezlikleri, romatizmal hastalıklar, kalp hastalıkları, kemik hastalıkları gibi birçok alanda kullanım potansiyeline sahiptirler. Bilim ve teknolojiye son gelişmeler doğrultusunda Kök hücrelerin bu alanlarda kullanılması gündeme gelmiştir.

Farklılaşma ve kendi kendini yenileyebilme özelliği, kök hücrelere sayılarını sabit tutabilme ve ihtiyaç olduğu zamanlarda kendilerinden sonraki hücrelere farklılaşarak görev yapacak hücrelerin gelişimini, olgunlaşmasını ve çoğalmasını sağlar. Kök hücreler özelleşmiş hücreler değildir. Bir kök hücre, bir kalp kasında olduğu gibi kanı vücuda pompalamak için komşu hücrelerle

birlikte çalışmaz, eritrositlerde olduğu gibi oksijeni dokulara taşıyamaz. Ancak, özelleşmiş hücelere dönüşmek üzere kaynak oluşturabilir. HKH kemik iliği stroması ve hematopoetik sistem elemanlarından oluşan çok organize bir dokudur (3).

Kök hüceler, özelleşmemiş hücelere kaynaklık edebilirler. Bu olaya, farklılaşma (differentiation) denir. Kök hüceler birden fazla hücre tipine farklılaşabilirler. Vücuttaki tüm hücelere dönüşebilecek potansiyele sahip ilk embriyonal hücreye "totipotent" hüceler denir. Erken embriyonik dönemin yaklaşık 5. gününde bu hüceler blastosiste dönüşür. Blastosist; trofoblast, blastosol boşluğu ve embriyoblast (iç hücre kitlesi) olmak üzere üçlü bir yapıyı içerir. Embriyoblastlar endoderm, ektoderm ve mezodermden köken alan pek çok hücre çeşidine kaynaklık edebilir. Bu özelliğe sahip kök hüceler "pluripotent hüceler" olarak adlandırılır (4).

Gelişimin ilerleyen dönemlerinde hüceler biraz daha özelleşmiş görevler edinir ve erişkin kök hücelere dönüşürler. Erişkin kök hücre yer aldığı dokunun hücre tiplerini üretmektedir. Örneğin kemik iliğindeki bir kök hücre, kırmızı ve beyaz kan hüceleriyle trombosit gibi pek çok değişik kan hücresine kaynaklık eder. Biraz daha özelleşmiş bu hücelere "multipotent hüceler" denilmektedir. Farklılaşmanın örnekleri arasında sinir hücelerine dönüşen kan hüceleri, insülin üreten karaciğer oval hüceleri ve kalp hücelerine, kas hücelerine, kemik hücelerine dönüşebilen HKH'leri sayılabilir.

1.1.2. Hematopoetik Kök Hücre Kaynakları

Günümüzde çeşitli hastalıkların tedavisinde gerektiğinde uygulanabilen HKHN için kök hüceler sıklıkla "kemik iliği" veya "periferik kan" dan elde edilirken "kordon kanı" üçüncü bir alternatif kök hücre kaynağını oluşturmuştur (5).

1.1.2.1. Kemik İliği Kaynaklı Hematopoetik Kök Hüceler

Geleneksel kök hücre transplantasyonu yöntemi hiç müdahale edilmemiş tam kemik iliği hücre karışımının santral damar yolu ile infüzyonudur. Kemik iliği hücre süspansiyonu ile HKHN için $>3 \times 10^8$ toplam çekirdekli hücre (TÇH) /kg (alıcı vücut ağırlığı) hedeflenmekte, ancak en az toplam $2-4 \times 10^8$ /kg TÇH kemik iliği hücresi de kabul edilmektedir.

Kemik iliği süspansiyonu temel hematopoetik kök hücre popülasyonunu içeren heterojen hücrelerden oluşur. Bir allojeneik nakil olgusundaki gibi verici ve alıcı arasındaki artmış HLA doku uyum farklılığı graft versus host hastalığı (GVHH) gibi ciddi yan etkilere neden olabilir. Kemik iliği T hücrelerinin oranının azaltılması GVHH sıklık ve şiddetini azaltır fakat sıklıkla kök hücre yamanmasında (engraftmant) sorunlara ve altta yatan hastalığın tekrarlama riskinin artmasına neden olabilir (6).

1.1.2.2. Fetal Karaciğer Hücre Kaynaklı Hematopoetik Kök Hücreler

Hamileliğin 2. ve 7. ayları arasında fetüs karaciğeri fizyolojik olarak fetal hematopoetik dokunun yerleşim bölgesidir. Fetal karaciğer hücreleri hem hematopoez hem de lenfopoez sistemlerini başarıyla yeniden oluşturabilir ve lenfopoezin başlamasından önce transplantasyon için kullanılabilirler (3).

1.1.2.3. Kandan Hematopoetik Kök Hücreler

Kemik iliği ve periferik kan kök hücre havuzları HKH ekstrasvasküler kemik iliği bölgelerinden kan dolaşımına ve tam tersi yöne göçüne izin veren dinamik bir denge sağlar. Periferik kanda herhangi bir anda dolaşan kararlı durumdaki kök hücrelerin sayısı genellikle güvenli bir transplant dozu için çok düşüktür (7).

Lökofereze kök hücrelerin elde edilme olasılığı ilk defa 1989'da gösterilmiştir. Bunu başarılı kan kök hücre mobilizasyonu ile ilgili klinik çalışmalar ve hematopoetik yeniden yapılanma için mobilize kan hücrelerinin avantajıyla ilgili raporlar takip etmiştir. Allojeneik ve otolog HKHN planlanan hastalarda CD34+ kök hücrelerin toplanması amacı ile periferik kök hücre aferezi yapılabilmektedir. Kök hücre toplama işlemi aslında mononükleer hücrelerin (MNH) daha fazla toplanmasını sağlamaya yönelik bir lökoferez işlemidir. Morfolojik olarak lenfositlere benzeyen kök hücrelerin aferez işlemi ile toplanabilmesi için, altta granülosit- eritrosit üstte trombosit plazma katmanı arasındaki MNH toplanmaktadır (8).

Periferik kan kök hücre kullanımıyla ilgili detaylı ilk raporun 1989'da yayınlanmasından beri OKHN klinik kullanımı hızla artmıştır. Periferik kök hücreler daha hızlı "engraftman" kinetiği ve elde edilme kolaylığı nedeniyle kök

hücre kaynağı olarak OKHN'nde geniş oranda kemik iliğinin yerini almıştır, ayrıca periferik kök hücreler AKHN'nde de her yıl artan oranda kullanılmaktadır. Bir vericiden aferez yöntemiyle elde edilen CD34+ MNH sayısı kemik iliğinin içerdiği CD34+ hücre sayısının dört katını geçebilir (3).

Kemik iliği kök hücreleri ile kıyaslandığında periferik kan kök hücrelerinin çeşitli avantajları vardır:

1. Kök hücrelerin toplanması hastaneye yatmayı, genel anesteziye maruz kalmayı gerektirmez.
2. Myeloablatif tedaviden sonra periferik kan hücreleri ile kemik iliği hücrelerine kıyasla daha kısa süreli sitopeni süreci olur. Hem nötrofiller hem trombositler, büyüme faktörüyle uyarılmış periferik kan kök hücreleri kullanıldığında kemik iliği hücreleriyle olduğundan daha hızlı yeniden toparlanma yeteneğine sahiptir. Kemik iliği mililitrede en yüksek oranda CD 34+ TÇH içerir, fakat periferik kan kök hücreleri büyüme faktörü ± kemoterapiyle mobilizasyondan sonra kemik iliğinden daha da yüksek sayıda MNH içerebilir (9).
3. Son olarak periferik kanın malign hücre içerme olasılığı kemik iliğinden daha düşüktür.

Periferik kan kök hücre nakli dezavantajları ise; genelde santral venöz erişime ihtiyaç duyulması, HKH mobilizasyonu için çeşitli unsurlara olan gereksinim ("chemopriming"), sitokin tedavisinin yan etkilerinin görülebilmesi, mobilizasyon işleminin başarılı olması gerekliliği, immün sistemdeki lökositlerin aktive hale gelebilmesi, büyüme faktörleri ile baş ağrısı, ateş, kemik ağrısı ve miyalji gibi minör yan etkilerin görülebilmesidir (3).

İki bin yedide dünya üzerinde 40.000'e yakın HKHN yapıldığı bildirilmiştir; 1980–1990 yıllarında, periferik kan kök hücre naklinin hematolojik yapılanmadaki potansiyelinin ortaya çıkarılması ile periferik kan kök hücre kullanımı, kemik iliğinin yerini almıştır ve son yıllarda yapılan klinik çalışmalarla periferik kan ve göbek kordonunun da kök hücre kaynağı olarak etkin bir şekilde kullanılabileceği gösterilmiştir.

Kemik iliğindeki öncül hücrelerin, büyük oranda dolaşıma salınımını sağlayan hematopoietik sitokinlerin kullanımı ile periferik kan kök hücre kullanımı daha da artmıştır. Son yıllarda otolog transplantların hemen tamamı

periferik kan kök hücre ile yapılmakta, allojeneik transplantedaki periferik kan kök hücre kullanımını da giderek artmaktadır (10).

1.1.3. Hematopoetik Kök Hücre Toplanması

Dolaşan kandan kök hücre toplanması aferez işlemi ile yapılmaktadır. Hematopoetik sitokin kullanımının periferik kanda geçici olarak HKH artışı (mobilizasyon) yaptığının bulunması ile transplantasyon için daha fazla sayıda periferik kan kök hücre toplanması mümkün olmuştur. Kök hücrelerin kullanımının ilk yıllarında hangi hücrenin greftin tutması yönünde bir ölçü olacağı uzun zaman tartışma konusu olmuştur. İlk yıllarda bazı merkezler MNH sayımlarını esas almışlar ise de zamanla yapılan çalışmalar CFU-GM (Colony forming unit granulocyte macrophage) sayısı ve CD34+ hücreler üzerine yoğunlaşmıştır (11).

Mobilizasyon için otolog periferik kök hücre toplanması için kullanılan ilaç G-CSF (koloni stimulan faktör) dür. OKHN'de en sık kullanılan mobilizasyon rejimi kemoterapi ve G-CSF kombinasyonudur (12).

Mobilizasyonun amacı daha çok kök hücre üretmek ve periferik kana daha çok kök hücre katılımını sağlamak için kemik iliğini uyarmaktır. Bu amaçla koloni stimüle edici ajanlar (CSF) (filgrastim, lenograstim) kullanılır. Kemoterapiyi takiben CSF uygulanmaya başlanır. Aferez işlemi takiben hücre içeriği değerlendirilir ve dondurulur (13).

1.1.3.1. Aferez işlemi

Otolog periferik kök hücre toplanması için afereze ne zaman başlanması gerektiğini belirlemek için kök hücrelerin periferik kana en fazla geçtiği günü bilmek çok önemlidir. Aferez işleminde hastanın kolundan veya damar yolu uygun olmayan hastalarda kateterden alınan kan cihazda katmanlara ayrıştırılır ve kök hücre kısmı toplanır kanın kalan kısmı hastaya geri verilir.

Aferez çevre kanının santrifüj edilmesi, hücrelerin yer çekiminin etkisiyle çökmesi, en altta kalan eritrosit tabakasının üzerinde lökosit tabakasının aferez cihazlarındaki sensörler vasıtasıyla tespit edilerek ayrı bir torbaya toplanması işlemidir. Otolog periferik kök hücre işlemlerinde hastanın hematokrit değeri, yaşı ve boyu gibi değerler kullanılır. Kök hücre toplanması

işleminde işlenen kan miktarı genellikle total kan hacminin 2 ya da 3 katı olmaktadır. Kök hücreler yüzeyinde belli bir protein CD34 antijenini sunmaktadırlar. Çevre kanında hücrelerin sadece %0,03-%0,05'i CD34 sunarlar.

Toplanan kök hücreler kriyoprezervasyon işlemiyle dondurulup saklanır ve hastalığın seyrine bağlı olarak uygun zamanda hastaya nakledilir. Dondurma (kriyoprezervasyon) işleminde toplanan kök hücreler özel koruyucu (kriyoprotektan) ajanlar ile karıştırılarak -196°C'lik sıvı azot tanklarında veya -83°C'de derin dondurucuda saklanmaktadır. Koruyucu madde olarak kullanılan dimetil sülfoksit (DMSO), çok düşük sıcaklıklarda hücrenin parçalanmasını önler. Ancak DMSO ve 0°C'nin altında bir sıcaklıkta kök hücre ürünlerini muamele etmek mikrobiyal patojenleri yok etmemektedir (14).

1.1.4. Kriyoprezervasyon

HKHN uygulamalarında transplant hazırlama rejimlerinin gerektirdiği süre nedeniyle hastadan elde edilmiş olan hücrelerin saklanması bir zorunluluk oluşturmaktadır. Kriyoprezervasyondan amaç, kemik iliği ya da çevre kanından elde edilen canlı pluripotent HKH'lerin yeniden eritildiklerinde canlılık ve fonksiyonel bütünlüklerinin yüksek oranda korunmuş olması ve toksik bir etki olmaksızın alıcıya infüze edilebilmesinin sağlanmasıdır.

Dondurulmayan ürünlerde progressif bir HKH kaybı olmaktadır. Bununla birlikte dondurma işlemleri ya da saklama döneminde de beklenmedik hücre kayıpları olabilmektedir. Dondurma işlemleri sırasında hücre kaybının en önemli nedeni buz kristal formasyonudur.

Hızlı dondurma işlemlerinde (>10°C/dak) intrasellüler buz kristalleri oluşmakta ve bu durum hücrenin mekanik olarak parçalanmasına ve hızlı hücre ölümüne neden olmaktadır. Daha yavaş (<10°C/dak) soğutma hızlarında ise buz kristal oluşumu hücre yüzeyinde oluşur. Ortaya çıkan hiperosmolar durum da hücrenin dehidratasyonu ile ölümüne neden olmaktadır. Hücre içi buz kristal oluşumu soğutma hızının yavaşlatılması ve kriyoprotektan madde eklenerek azaltılabilir. Kriyoprotektan madde olarak ise DMSO, gliserol, polivinilpirolidon, hidroksietil starch (HES) kullanılmaktadır.

Tipik bir kriyoprotektan karışımı %10 DMSO ve %5 insan serum albümini içerir. Bu final solüsyon genellikle polyolefin gibi dondurma ve çözündürme işlemlerine dayanabilen 100–200 ml'lik plastik torbalara aktarılır. Torbalara aktarmadaki en kritik basamak ısıyla steril torba kapatılması yapılmadan önce tüm havanın torbalardan uzaklaştırılmasıdır. Bu titizlikle yapılmazsa sıvı nitrojenden oda sıcaklığına çıkarıldığında torbanın patlamasına neden olur (15).

1.1.5. Hücrelerin çözülmesi ve infüzyonu

Buz kristalleri çözülürken hücre içerisinde oluşabilecek serbest suya bağlı olarak hücre lizisi ortaya çıkabilir. DMSO hücre membranından difüze olarak osmotik şoku azaltır ve hücreyi hasarlanmaktan korur. Çözündürme işlemi için torba ve kriyovialler 37–40 °C'lik su banyosuna konarak tümüyle sıvı faza geçinceye dek bekletilir. Burada torba çıkışlarının olduğu ağız kısmının su içine girmemesine dikkat edilmeli ve tercihan steril koruyucu torbalar kullanılmalıdır. Ardından OPKH hemen santral venöz yol aracılığıyla ve kan transfüzyonu ilkeleri ışığında alıcıya infüze edilir (15). İnfüzyon günü, genellikle hastalara hazırlık rejimi adı altında yapılan kemoterapi ve/veya radyoterapi tamamlandıktan 48 saat sonraki gündür ve sıfırıncı gün olarak kabul edilir.

1.2. Kök Hücrelerde Kalite Kontrolü

Akreditasyon, ulusal veya uluslararası kuruluşlar tarafından; laboratuvarların, muayene ve belgelendirme kuruluşlarının ulusal ve uluslararası kabul görmüş teknik kriterlere göre değerlendirilmesi, yeterliliğinin onaylanması ve düzenli aralıklarla denetlenmesidir.

Böylece hatalar ya da arızalar hızla tespit edilir ve tekrarlanma olasılığı minimuma indirilir. Akreditasyon eğitime yardımcı olur ve tüm üyelerin pozisyonlarını ve sorumluluklarını açık bir şekilde tanımlar. İstenen kalite düzeyi elde edildikten sonra aşılması gereken tek zorluk, bu uygulama standardının korunmasıdır.

Birleşik Akreditasyon Komitesi ISCT-EBMT (JACIE) akreditasyon programı 1999'da, Avrupa'nın her yerinde resmi olarak kabul edilen standartlaştırılmış bir akreditasyon sistemi oluşturmak amacıyla kurulmuştur. JACIE programı, merkezi ABD'de bulunan Hücresel Tedavi Akreditasyon Vakfı

(Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy-FACT) tarafından belirlenen standartlar temel alınarak Avrupa' da yapılan ortak çalışmalar sonucunda oluşturulmuştur. Bu akreditasyon süreci, farklı Avrupa ülkelerinde aynı titizliğin, kriterlerin ve standartların sürdürülmesini sağlayacak şekilde merkezileştirilmiştir. Hematopoetik Projenitör Hücre Toplama, İşleme ve Transplantasyon Standartlarının asıl amacı, hematopoetik projenitör hücre transplantasyonunda gerçekleştirilen tıbbi ve laboratuvar uygulamaların kalitesini artırmaktır. Bu standartlar, bu hücrelerin toplama, işleme ve yönetme işlemlerinin tümünü ve kemik iliği ya da periferik kandan ayrılan hematopoetik projenitör hücreleri ele alır. Bu, çeşitli hücre popülasyonunun gelişimini ya da azaltılmasını, hematopoetik hücre popülasyonlarının genişletilmesini, kriyoprezervasyon ve infüzyonunu içeren süreçleri kapsar (16).

FDA (Food and Drug Administration) CFR (Code of Federal Regulations) tarafından tanımlanan GMP (Good Manufacturing Practices) belirli bir bina yapısı, ventilasyon sistemi veya laboratuvar tasarımı değildir; üretilen ürünün saflığı, potansi, stabilitesi ve etkinliğindeki değişkenlik riskini azaltmak için uygulanan sistematik bir yaklaşımdır. Bu yaklaşım hücresel tedavi amaçlı yapılan çalışmalarda tüm uygulamaların yazılması ve belgelenmesi, işlemlerin belgelendiği şekilde yapılması, ispatlanması ve geliştirilmesi basamaklarını içermektedir.

Bu kapsamda kök hücre transplantasyon üniteleri'nde hematopoetik kök hücre kriyoprezervasyon ve saklanması işlemlerinin İyi Doku Uygulamaları (GTP, Good Tissue Practices) koşullarına sahip bir tesiste, GMP kurallarına uygun olarak yapılması önemlidir. Tüm ekipman, kaynak ve laboratuvar alanlarının kullanımlarındaki farklılığı ortadan kaldıracak şekilde standart işletim kılavuzlarının (SOP, Standard Operating Procedures) oluşturulması, oluşturulan kılavuzların eğitilmiş işletimciler tarafından uygulanması, işlem ve işlemleri kontrollerinin titizlikle yapılması, tesisin ve yapılan işlemlerin validasyonu, kayıtların doğru ve uygun bir şekilde tutulması, iç-dış denetimlerinin yapılması, uygulanan her basamağın kontrol edilmesi, yetersizliklerin belirlenmesi ve giderilmesi için gerekli düzeltmelerin yapılması şarttır (17).

Merkezimiz henüz JACIE akreditasyonuna sahip değildir.

1.3. Hematopoetik Kök Hücre Toplanması Mikrobiyal Kontaminasyon

HKHN uygulanan hastalarda hazırlık rejimi amaçlı myeloablatif tedaviyi takiben yıllarca sürebilen bir immün sistem disfonksiyonu ve bunun sonucunda da infeksiyonlar gelişir. Santral venöz kateterler (SVK) sıvı infüzyonu, aferez, hemodiyaliz ve santral venöz basınç ölçümü gibi değişik nedenlerle her geçen sene artan sıklıkta kullanılan kateterlerdir (18).

Hücre ayırma cihazları genellikle dolaşımdan dakikada 50–80 ml çekim hızında (inlet) kan alıp geri dönüş yaparak çalışmaktadırlar. Eğer hastanın periferik venleri uygun ise, SVK’lerde görülebilecek enfeksiyon, kanama ve tromboz risklerinden kaçınmak için mümkün olduğunca, bu venler kullanılmalıdır. Bu nedenle hastaların antekubital venleri değerlendirilir ve sıklıkla bu venler terapötik hemaferes işlemi için kullanılır. Venler uygunsa işaretlenir ve takip eden hekim ve hastaya işlem öncesinde bu venleri koruması öğütlenir. Venleri uygun olmayan hastalarda kateter takılması önerilir (19).

Uzun süreli intravenöz kemoterapi, sık kan örnekleme, agresif kombinasyon kemoterapileri, hücre toplanmasını takiben OKHN gibi yoğun tedavi uygulamaları ve sürekli total parenteral beslenme gereksinimi olan hastalar için yarı kalıcı, silikon tabanlı, cilt tünelli aferez veya Hickman benzeri kateterler tercih edilmektedir (20).

Aferez ve hemodiyaliz kateterleri belirli sürede fazla akıma gereksinim duyulduğu için genellikle lümen çapı daha geniş, görece daha kısa ve daha sert malzemelerden üretilmiş kateterlerdir (21).

İdeal bir aferez kateteri çift lümenli olmalı, resirkülasyona izin vermemeli, lümenleri maksimum 150 ml/dk çekim hızına olanak sağlayacak büyüklükte olmalı, bükülme yapmayacak ve kateter duvarları birbirine değerek kapanmayacak sertlikte olmalı, infeksiyonlara dirençli ve vücut dokuları ile uyumlu özellikte olmalıdır. Kateterlerin takılması ve kullanımında steril tekniklerin uygulanması şarttır (22).

Bazı çözeltiler ve temizleyiciler kateterlerin yumuşamasına neden olabilirler. Alkol ve iodyin ile uzun süreli temastan kaçınılmalıdır. Kateterin üreticisinin uyarıları göz önünde bulundurularak, kateter açıklığı idamesi için kateter lümenlerinin yeterli miktarda ve konsantrasyonda heparin kullanılarak yıkanması gerekir (23).

Kateter bakımı için kateter giriş yerine antiseptik çözelti (örneğin povidinyodür) sürülür. Ardından steril pansumanla kateter giriş yeri kapatılır. Pansuman yapılırken mutlaka asepsi kurallarına uyulmalıdır (24). Bununla birlikte bir çalışmada, santral venöz ve arteriyel kateter takılacak alanların %2'lik sıvı klorheksidin glukonatla hazırlanmasının, %10'luk povidon iyodin veya %70'lik alkolle karşılaştırıldığında kan dolaşım enfeksiyon oranını daha çok azalttığı bildirilmiştir (25).

1.3.1. Kateter Enfeksiyonları

Enfeksiyonlar, SVK ilişkili komplikasyonların en önemlisidir. Hematoloji ve onkoloji birimlerinde tedavi edilen hastaların büyük çoğunluğunda bağışıklık sistemi ve hematopoez geçici olarak baskılandığı için cilt bütünlüğünü bozan SVK'ler, ciddi enfeksiyon kaynağıdır. SVK'ler özellikle yüksek doz kemoterapi ve kök hücre nakli uygulamalarının artmasıyla hematoloji ve onkoloji ünitelerinde daha sık kullanılır hale gelmiştir. Kan örneği alınmasını, santral venöz basınç takibini, uzun süreli kemoterapi, antibiyoterapi ve kan ürünlerinin infüzyonunu kolaylaştırması nedeniyle SVK uygulanması, hematolog ve onkologların standart yaklaşımı haline gelmiştir (26).

Tedavi amacıyla yapılacak olan aferez işlemlerinde hastanın ön kolundaki venöz damarları uzun sürecek işlemler için uygun olmayabilir. Bu durumlarda *vena cava superiora*, *vena femoralise* veya *vena jugularise* SVK takılmasıyla işlem yapılmaktadır. Türk Hematoloji Derneği Aferez Alt Komitesi bu konuda yapmış olduğu çalışmada SVK'ya bağlı komplikasyonları %10 olarak bildirmiştir (27). Kateter enfeksiyonlarının gelişiminde rol oynayan çeşitli faktörler mevcuttur.

1.3.1.1. Mikroorganizmanın Giriş Yeri

Kateter infeksiyonları kateter ve mikroorganizma arasındaki ilişki sonucu gelişir. Mikroorganizmalar için potansiyel giriş yolları deri, kateter giriş kapıları ve infüzyon sistemleridir. Normal deri florası veya patojenik mikroorganizmalar tarafından giriş bölgesinin kolonizasyonu en önemli faktördür. En önemli kaynak deridir. Bu nedenle hastanın veya sağlık personelinin derisinden gelen flora elemanları ile kontaminasyon primer kaynaklardır (25). Kateterin girdiği yerlerde deri bütünlüğü bozulmuştur. Kontaminasyon kateteri takma sırasında veya daha sonrasında olur.

İnfeksiyon oluşumunda mikroorganizma ürünleri, kateter yapısı ve konak yanıtından oluşan kompleks bir süreç yaşanmaktadır. Mikroorganizmalar katetere başlıca şu yollarla ulaşır: Kateter takılması sırasında deri ya da kateterde bulunan mikroorganizmalar mekanik yolla katetere bağlanabilir. Takılı kateter ile dokular arasında oluşan bölgeden sonradan mikroorganizmalar kateterin dış yüzeyi boyunca ilerleyebilir. İnfüzyon sıvısı içindeki mikroorganizmalar katetere ulaşabilir. Kateter ağzı (hub) kısmına ulaşan mikroorganizmalar kateter infeksiyonu oluşturabilir (bu aşamada sağlık çalışanlarının elleri ve kateter bakımı ile kullanımı sürecindeki sorunlar en önemli rolü oynar). Mikroorganizmalar genellikle kateter lümeni boyunca ilerler. Kana karışan mikroorganizmalar uzak odaktan katetere ulaşabilir. Kısa süreli kateter uygulamalarında büyük oranda takılma sırasında deride bulunan mikroorganizmalar infeksiyonlara neden olur (%70–90). Daha sonra hub/lümen kaynaklı bakteriler (%10–50), kan yoluyla ulaşan bakteriler (%3–10) ve infüzyattan kaynaklanan bakteriler (%3) etken olabilir. Uzun süreli kateterlerde ise özellikle hub/lümen kolonizasyonu ile kateter lümenine ulaşan bakteriler etken olarak karşımıza çıkmaktadır (28).

1.3.1.2. Kateter Giriş Yeri

Kateter infeksiyonlarının %65'inden sorumludur. Kısa süreli ve geçici SVK uygulamasında ortaya çıkan infeksiyonların kaynağıdır. Geçici SVK uygulaması durumunda, kateter giriş yerindeki mikroorganizmalar kateterin dış yüzeyi boyunca ilerleyerek kateter ucuna ulaşırlar ve damar içi infeksiyona yol açarlar.

1.3.1.3. Kateter Ağızı

Kateter infeksiyonlarının %30'undan sorumludur, uzun süreli ve kalıcı SVK uygulamasında ortaya çıkan infeksiyonların kaynağıdır. Sağlık çalışanları tarafından daha fazla kullanılan kalıcı SVK, eller aracılığıyla kateter ağızına bulaşan infeksiyonların kaynağı konumundadır. Kateter ağızındaki mikroorganizmalar kateterin dış yüzeyi boyunca ilerleyerek kateter ucuna ulaşır ve damar içi infeksiyona yol açar.

1.3.1.4. Konak İlişkili Patojenik Etkenler

Belli bir mikroorganizmanın aderens özellikleri kateterle ilişkili infeksiyonlarda önemli bir mekanizmadır. Konakta bulunan fibrinojen, fibronektin, kollajen ve laminin gibi glikoproteinler; kateter takıldıktan kısa bir süre sonra kateter yüzeyine yapışarak bir biyofilm tabakası oluşturur. Bu tabaka, başta Staphylococcus epidermidis ve Staphylococcus aureus olmak üzere patojenlerin katetere yapışmalarını kolaylaştırmaktadır (25).

Kateter İnfeksiyonları ile İlişkili Risk Etkenleri Şunlardır:

Konakla ilgili: Yaş (<1 ve >60), nötropeni, bağışıklık baskılayıcı tedavi, deri bütünlüğünün kaybı (yanık, psoriasis vb), altta yatan sistemik hastalık, farklı bir odakta enfeksiyon varlığı.

Kateterle ilgili: Kateter giriş yeri infeksiyon riski (femoral> juguler> subklavian), kateter türü infeksiyon riski (teflon/polivinil klorür> plastik/poliüretan> çelik), kateter tipi infeksiyon riski (tek lümenli> çok lümenli), kateter uygulama şekli infeksiyon riski (cut-down> perkütan> implante), kateter uygulama süresi.

Diğer: Kateterin acil koşullarda uygulanması, kateterin deneyimsiz ekip tarafından takılması, kateter uygulaması ve takibi sırasında asepsi yetersizliği (28).

Son 20 yılda yapılmış çalışmaların tümü, aseptik teknik standardizasyonu ve bu konuda verilen eğitimleri takiben infeksiyon riskinde azalma olduğunu, kateter takılması ve bakımının tecrübeli olmayan kişiler tarafından yapılmasının kateter kolonizasyonu ve kateter ilişkili kan dolaşım (KİKD) infeksiyon riskini arttırabileceğini göstermiştir. KİKD infeksiyon oranları hastalığın ağırlığı ve tipi (örneğin; üçüncü derece yanığa karşı postkardiyak

cerrahi) gibi hasta ile ilgili parametrelerden; kateterin takılma koşulları (örneğin; elektife karşılık acil), kateter tipi (örneğin; tünelliye karşılık tünelli olmayan veya *subklavyene* karşılık *juguler*) gibi kateterle ilgili parametrelerden ve sağlık çalışanlarının el yıkama alışkanlığı gibi hastane ile ilgili parametrelerden etkilenebilir (25).

1.3.1.5. Mikroorganizmalar ile İlişkili Patojenik Etkenler

Özellikle koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), kateter yüzeyine doğrudan yapışabilmelerinin yanı sıra glikokaliks katmanı oluşturarak konağın bağışıklık yanıtından korunabilirler. *Candida* ve *Pseudomonas aeruginosa* da benzer patojenik özelliğe sahiptir. Stafilokoklar, yabancı cisimlere yapışmalarını kolaylaştıran ve konak savunmasından korunmalarını sağlayan mukopolisakkarit yapısındaki bir madde (slime, biyofilm) üretir. Bu madde, ayrıca antibiyotiklerin etki etmesini engelleyerek bakterileri antibiyotiklerin etkisinden korumaktadır. Bazı *Candida* türleri de, glukoz içeren sıvıların varlığında daha kolay çoğalır ve “slime” benzeri maddeler açığa çıkarır. Bu nedenle, total parenteral nutrisyon alan olgularda *Candida* türlerine bağlı kateter infeksiyonlarında bir artış söz konusudur (30). Biyofilm tabakası KNS, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida* türleri tıbbi araçlarla ilişkili infeksiyonlarda çok sık görülür (31).

1.3.1.6. Kateter Tipi ve Yapısı ile İlgili Etkenler

Kateterlerde birden çok lümen varlığı, kateter yüzeyindeki düzensizlikler gibi fiziksel etkenler bazı bakterilerin (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus* ve KNS vb) katetere yapışmasını kolaylaştırmaktadır. Ayrıca trombojenik yapıdaki bazı kateterlerde infeksiyon oluşma olasılığı artar. Mikroorganizmalar; silikondan, polivinil klorür ve polietilenden yapılmış kateterlere kıyasla poliüretandan ve teflon polimerlerinden yapılmış kateterlere daha kolay yapışır. Bakterilerin en zayıf tutunduğu kateterler silikon yapıda olanlardır (32).

1.3.2. Kateter İnfeksiyon Ajanları

Oldukça geniş spektrumda mikroorganizma kateter ile ilişkili infeksiyonlara yol açar. Bunlar içinde stafilokoklar (koagülaz negatif ve pozitif), aerobik gram negatif basiller ve *Candida albicans* öne çıkar. Kateter

infeksiyonlarından sorumlu etkenlerin çoğunluğu deri florasından kaynaklanır. Tüm infeksiyon etkenleri göz önüne alındığında, sırasıyla Staphylococcus aureus, Candida albicans ve KNS en sıklıkla kateter kolonizasyonu sonrası damar içi infeksiyona neden olmaktadır (33).

Kateter infeksiyonlarında etkenlerin yüzde dağılımı şu şekildedir: KNS %30-40, Staphylococcus aureus %5-10, Enterococcus spp. %4-6, Candida spp. %3-6, Pseudomonas aeruginosa %2-5, Enterobacter spp. %1-4, Acinetobacter spp. %1-2, Serratia spp. %<1, diğerleri %<1-5 (33).

Kateter takılacak bölgedeki cilt florasının yoğunluğu, kateter infeksiyonları için majör risk faktörüdür. İnfeksiyon riskini azaltmak için, SVK'lerin juguler veya femoral bölge yerine subklavyen bölgeye takılması önerilmektedir. Juguler ve subklavyen kateterlere oranla daha yüksek derin ven trombozu riski taşınması ve infeksiyon gelişme olasılığının daha yüksek olduğunun varsayılması nedeniyle femoral kateterlerden mümkün olduğunca kaçınılmalıdır (25).

Kateterin takılma yeri ve tipine göre de etken sıklıkları değişebilir. Ancak KNS'ler tüm kateter tiplerinde en sık etkendir. Femoral yoldan uygulanan SVK infeksiyonlarında en sık etken gram negatif basiller ve enterokoklardır. Uzun süreli SVK'de de KNS'yi takiben S. aureus, gram negatif basiller ve Candida türleri infeksiyon etkenleri olarak öne çıkar. Tünelsiz kısa süreli SVK'ler ve pulmoner kateterlerde KNS, S. aureus ve enterokoklar en sık etkenlerdir. Uzun süreli cilt tünelli kateterlerde KNS, S. aureus, enterokoklar, gram negatif basiller, Candida türleri ve küfler öne çıkar (34).

1.3.2.1. Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS)

KNS'lara bağlı infeksiyonlar, kök hücre transplantasyonundaki çeşitliliğin artmasıyla giderek önem kazanmaktadır (35). Damar içi kateterler de bu bakterilerle olan infeksiyonların sıklığındaki artışın önemli nedenlerindedir. KNS'lara bağlı hastane infeksiyonları, Escherichia coli ve S. aureus'tan sonra birçok hastanede üçüncü sırayı almaktadır (34).

Kateter infeksiyonlarının en sık nedeni olan KNS'lara bağlı infeksiyonlar çoğunlukla sessiz seyretmektedir. Deri florasının normal üyesi olan bu bakteriler, kateterleri sıklıkla kontamine etmektedir. KNS infeksiyonlarının

sıklığının artma nedenleri bu organizmaların gerçek neden olarak (kontaminasyonun tersine) saptanması ve bildirilmesi, kinolon ağırlıklı profilaksi, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılması ve kateter kullanım sıklığının artmasıdır. KNS'lara bağlı kateter infeksiyonlarında, kateter korunarak tedavi mümkündür. Tedavide başarı benzer olmakla birlikte, kateter korunarak tedavi edilen hastalarda nüks olasılığı daha yüksektir. Kateter infeksiyonlarına yol açan KNS'lar çoğunlukla metisiline dirençlidir.

1.3.2.2. Staphylococcus aureus

Metastatik infeksiyon, endokardit, osteomyelit, apse, sepsis, septik tromboz ve emboli gibi ciddi infeksiyöz komplikasyonlara ve mortalitede artışa neden olabilir. Bu nedenle kateter mutlaka çekilmeli ve uygun tedavi verilmelidir. Normal bireylerde %20–30 oranında görülen komplikasyonlar, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda %45'e kadar yükselebilmektedir (33).

MRSA (metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*) suşları, yaygın buldukları servislerdeki hastane enfeksiyonu hızını tek başına artırmaktadır. MRSA, hastanelerde epidemik veya endemik olarak bulunabilir. Epidemiler, enfeksiyon kontrol önemleri ile önlenbilirler; ancak endemik durumlarda bu önlemlerin fazla bir faydası olmamaktadır. Hastanelerde MRSA ile mücadelede enfeksiyonların önlenmesi kadar kolonizasyonun önlenmesi de önem taşır. MRSA enfeksiyonundan önce hastada MRSA kolonizasyonu olur; kolonize hastalarda MRSA enfeksiyon hızı diğerlerine göre daha yüksektir. Kronik periton diyalizli hastalarda MRSA taşıyıcıları 8 kat daha fazla enfeksiyon geçirmektedir; cerrahi yara enfeksiyonları yine taşıyıcılarda 17 kat daha fazla olmaktadır. Kolonizasyonun engellenmesi, MRSA enfeksiyonu hızını düşürmektedir (36).

MRSA kolonizasyonu riski hastanede yatış süresi, antibiyotik tedavisi, altta yatan hastalığın ağırlığı, hastanın düşkünlüğü, yüksek riskli bir serviste bulunma, enfekte veya kolonize hasta veya personelle temas durumlarında artmaktadır.

1.4. Kateter ve Kan Kùltürleri ile İlgili Genel Öneriler

- Sadece KİKĐ enfeksiyonu şüphesi bulunan durumlarda kateter kùltürü yapılmalıdır.
- Kateter kùltürlerinin kantitatif veya semikantitatif yöntem kullanılarak yapılması önerilir.
- Kateterlerden sıvı besiyerine kalitatif kùltür alınması önerilmez.
- Kùltür için kateter ucu veya subkùtan bir segmenti gönderilmelidir.
- Pulmoner arter kateteri enfeksiyonundan şüphelenilen durumlarda tanısai değeri daha yüksek olduğu için kateter ucu yerine “introducer” uç kùltür için gönderilmelidir.
- SVK enfeksiyonunun tanısı için imkan varsa “akridin turuncusu lökosit sitospin” yönteminin kullanılması düşünülebilir.
- SVK’e bağlı KİKĐ enfeksiyonundan şüphelenilen hastalardan farklı zamanlarda ve farklı damarlardan olacak şekilde en az iki kan kùltürü alınmalıdır.
- Özellikle uzun süreli kateterin çekilemediği durumlarda kateter lümeninden ve periferik venden eş zamanlı kantitatif kan kùltürü alınması veya eş zamanlı olarak alınan kalitatif kan kùltürlerinde pozitiflik saptanma zamanının karşılaştırılabilmesi için kùltürlerin sürekli monitörizasyonu önerilir.
- Kısa periferik kateterlerde enfeksiyon şüphesi varsa kateter çekilmeli, kateter ucundan semikantitatif yöntemle kùltür alınmalı ve antibiyotik tedavisine başlanmadan önce en az iki farklı kan kùltürü alınmalıdır (25).

1.5. Amaç

Günümüzde hücresel tedaviler artan sıklıkta kullanılmaktadır. Bu tedaviler için gerekli hücreler çevre kanı veya diğer kaynaklardan toplanır ve takiben çoğu kez değişik işlemlere tabi tutulurlar. OKHN’de toplanan hücreler hastaya tekrar belli bir süre sonra infüze edilmektedir. İnfüze edilecek olan üründe hastada enfeksiyona yol açacak mikroorganizmaların bulunmamasına dikkat edilmelidir. Bu aşamada final ürünün güvenilirliği ve kalitesi son derece önemli olup, bu amaçla değişik düzenlemeler ve kurallar dizisi oluşturulmuştur. Bu kurallardan en önemlisi İyi Üretim Koşulları (GMP) ve kalite kontrol sistemlerinin kalite güvenlik programının içinde yer almasıdır. GMP

uygulamaları hücrenin toplanması, işlenmesi, saklanması, dağıtımı, uygulanması aşamaları ile personel eğitimi, ekipman, laboratuvar özelliklerine uzanan bir alanda her şeyi kontrol eden bir kalite güvenlik sistemidir. GMP bu anlamda ürünlerin standardizasyonunu, kalite ve güvenliğini sağlayan, uygulamaları ve hastayı gözetim düzenlemeleridir (37). Hücre tedavileri konusunda JACIE-FACT kabul edilmiş kalite yönetim sistemleridir.

Kontaminasyon açısından mikrobiyolojik tarama HKH toplanması ve infüzyon prosedürünün bir parçasıdır. HKH'in mikrobiyal kontaminasyonu nadirdir fakat nakil aşamasında potansiyel olarak ölümcül komplikasyonlara neden olabilir.

Çalışmada HKH ürünlerinin infüzyon aşaması sırasında mikrobiyal kontaminasyon oranının saptanması ve aynı zamanda kontamine ürünlerle nakil yapılan hastaların klinik seyirlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma 15/05/2018 tarihinde 2018-9/21 karar no ile Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı. Hastalara; kendilerine ait verilerin bilimsel bir yayında kullanılacağı konusunda bilgi verildi ve imzalanmış aydınlatılmış onam belgesi alındı. OKHN yapılacak hastalara önceden verilecek tedavi yöntemi ve tedavinin komplikasyonları anlatılmış ve yazılı aydınlatılmış onamları alınmıştı. OKHN işlemi için damar yolu olarak santral damar kullanıldı. Aferez işlemi devamlı akım tekniğiyle çalışan cihazlarla (COBE Spectra, Fenwal Amicus) standart steril teknikler kullanılarak yapıldı. Mobilizasyon kemoterapi ve G-CSF veya yalnız G-CSF kullanılarak yapıldı. OKHN ürün kültürü örnekleri antibiyotik kullanmaksızın standart steril teknikler kullanılarak toplandı.

Çalışmamızda Mart 2009 ve Eylül 2017 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Kliniği, Kemik İliği Nakil Ünitesinde otolog periferik kök hücre nakli gerçekleştirilen 227 hastanın toplamda 216'sında nakil günü ürün kültürü çalışılmış olduğu saptandı; bu olgular retrospektif olarak incelendi.

2.1. Hastaların Özellikleri

Olguların %54'ü erkek, %46'sı kadın; 18-60 yaş arası %65, > 60 yaş %35 idi. Tanıları değerlendirildiğinde multiple myelom %75, non-hodgkin lenfoma %11, hodgkin lenfoma %13, plazma hücreli lösemi %1 idi.

2.2. OKHN Toplanması ve Aşamaları

OKHN lökoferez yöntemiyle Baxter Fenwal Amicus ve COBE Spectra hücre ayırma cihazları ile dakikada 60–80 ml kan ayırma protokolü uygulanılarak yapıldı. Mobilizasyon rejiminin başlanmasından sonra lökosit sayısı $1000/\text{mm}^3$ üzerine çıktığında, perifer CD34+ düzeyleri $>20/\mu\text{l}$ olan hastalarda toplama işlemine başlandı. G-CSF (10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{gün}$ dozunda 5 gün süreyle) \pm kemoterapi kullanıldı ve 1–2 aferez uygulaması ile yeterli kök hücre toplanabildi.

CD34 düzeyleri 0–20 μl arasındaki hastalarda ertesi günkü değerler göz önüne alındı ve 20 μl 'nin üzerine çıktığında işleme başlandı (38). Bundan

dolayı hastanın periferik kan CD34+ hücre düzeyi işlem öncesinde ve işlem sonu üründe ölçülmüştü.

Aferez cihazlarında kök hücre toplanması hastaya antikoagülan, izotonik solüsyon ve kalsiyum desteği verilerek yapıldı. OKHN işleminde yaklaşık olarak total kan volümünün 2–3 katı (~15 L) işlemde geçirildi. İşlem sonunda toplanan kök hücre ürününden akım sitometri ile CD34+ hücre düzeyi ölçüldü. OKHN için kilo başına en az 4×10^6 /kg olacak biçimde CD34+ hücre toplanması hedeflendi. Ancak yeterli CD34+ hücre düzeyine ulaşılamayan hastalar ertesi günü tekrar büyüme faktörü olarak aferez işlemine alındı.

2.2.1.Toplanan Hücrelerin Dondurulması (Kriyoprezervasyon)

Her işlemde aferezle toplanan OKHN ürünleri ilk 24 saat içinde donduruldu. Kriyoprezervasyon işlemi için bütün merkezler tek bir metot kullanmamaktadır. FACT (Foundation for Accreditation of Cellular Therapy) standartlarına göre manipülasyon için en az hücre miktarının 2.5×10^6 – 5.0×10^6 CD34+ hücre/kg olduğunu belirtmiştir (39). Dondurma işlemi torbaya (Cryocyte Freezing Container) hastadan eş zamanlı toplanmış olan otolog plazma ve DMSO ile karıştırılarak mekanik dondurma yöntemi ile yapıldı. Hücre manipülasyon işlemleri HEPA filtreli kabinde yapılarak dış ortamından ürünün kontamine olması önlenmiştir. Bu amaçla kullanılan kabin 14 gün aralıklarla, Biocidal ZF (Amphi, İstanbul, TR) solusyonu ile sterilize edildi. Biocidal ZF bakteri, mantar, spor ve spor kolonileri ile zarflı virüslere karşı etkilidir.

Dondurma işlemi için şu malzemeler kullanıldı:

Cryocyte torba

60 cc'lik enjektör

DMSO ve otolog hasta plazması

Buz kalıpları

HEPA filtreli kabin

Çelik dondurucu kaset

Kabin içerisinde, ürün volümünün ölçülmesi amacıyla 60 cc'lik enjektörlere alındı. OKHN ürününü dondurmak için kaç torba kullanmak gerektiği belirlendi ve dondurulacak torba üzerine hasta ismi, protokol no, tarih,

ürün miktarı, total miktar ve torba numarası yazıldı. Ürün torbaya enjekte edildikten sonra %10'luk DMSO ve otolog hastadan alınmış plazma eş zamanlı olarak torbaya konuldu. Bu işlem sırasında torba buz kalıpları arasında kontrollü biçimde soğutuldu.

Torbaların içerisinde hava kabarcıklarının olmaması için diğer bir enjektör yardımıyla hava kabarcıkları alındı ve *sealer* yardımıyla ürün torbası kapatıldı. Torba üzerinde hasta adı, tarih, ürün ve total miktarının yazılı olduğu dondurucu mukavva kasetlere yerleştirilerek -83 °C'lik derin dondurucuya kondu.

2.2.2. İnfüzyon

OKHN için toplanan ürün hastalara premedikasyon sonrası 37–40 °C altında benmaride (su banyosu) çözülmek suretiyle infüze edildi. İnfüzyon öncesi kasetlerden çıkarılan saklama torbaları ürün güvenliği için ikinci bir torbanın içerisinde benmariye daldırılarak hafifçe masaj yapılarak ürünün çözülmesi sağlandı. Ürünlerin çözüldüğü benmari steril distile su kullanılmak ve kontrolü yapılmak suretiyle çalıştırıldı. Bu amaçla AquaClean (Amphi, İstanbul, TR) reaktifi kullanıldı. AquaClean su banyosunda bakteri, mantar ve su yosunlarının üremesini inorganik tuzların birikmesini önlemektedir. Bir litre su banyosu sıvısına 5 ml AquaClean ilave edilerek 4 haftada bir benmari suyu değiştirildi. İnfüzyon öncesi örnek torbasından 1 ml aerop ve 1 ml anaerop kültür için örnek alındı.

2.3. Mikrobiyolojik İnceleme

OKHN'nde en ciddi problemi enfeksiyonlar oluşturmaktadır. Bu enfeksiyonlar gram pozitif ve negatif bakteriyemi, fırsatçı mantar enfeksiyonları ve CMV'dir. Bakteriler en önemli enfeksiyon etkenlerinin başında gelmektedir. Her hastadan infüzyon öncesi ürünlerinden Bactec kültür vasatlarına 1 ml aerop kültür için örnek alındı. OKHN toplama işlemi kateter yoluyla gerçekleştirilecek hastalardan işlem öncesi kateterin ucundan örnek alındı. Kriyoprezervasyon işleminde volümü yüksek olan ürün 2 veya 3 torbaya bölünmek yoluyla torbalandı. Söz konusu torbaların üzerine ürünü tanıtıcı bilgiler ve torba numarası verildi. Torba üzerine verilmiş olan numaralar aynı

biçimde kültür şişelerine de yazıldı. Ürünlerin infüzyonu sırasında da torba numarası kültür şişelerine yazılarak örnekler toplandı.

Alınan bütün örnekler BACTEC PLUS+Aerobik/F kan kültür şişeleri ile Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderildi. Kan örnekleri BACTEC 9050 otomatize kan kültür sisteminde inkübe edildi. Cihazda 7. günde üreme olmayan örnekler negatif olarak değerlendirilirken, pozitif sinyal veren şişelerden Gram boyası yapıldı. Koyun kanlı agar, eozin metilen mavisi agar besiyerlerine pasajlar alınarak aerop koşullarda 35 °C'de etüvde 18–20 saat inkübe edildi.

Üreyen mikroorganizmalar konvansiyonel identifikasyon yöntemleri ve bu yöntemlerin yetersiz kaldığı hallerde Crystal Gram Positive (BBL) sistemi yardımıyla tanımlandı. Pozitif anaerobik kültürler için %5 koyun kanlıbesiyeri ve EMB, Gas-Pack® sistemiyle anaerobik kavanozda 24–48 saat inkübe edildi. Kan kültüründe tespit edilen izolatın klinik ve laboratuvar bulguları ile herhangi bir enfeksiyona neden olduğuna dair ipucu bulunmaması durumu örnek alım sürecinde meydana gelen kontaminasyon olarak değerlendirildi.

Stafilokoklar, koagülaz oluşturma özelliklerine göre koagülaz-pozitif (*Staphylococcus aureus*) ve koagülaz-negatif olarak ayrıldı. Koagülaz üreten *Staphylococcus aureus*'u diğer stafilokok türlerinden ayırt etmek amacıyla tüp koagülaz testi kullanıldı. Metisilin direncini saptamak için CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) önerileri doğrultusunda oksasilin tuz agar tarama testi kullanıldı. Suşların 0.5 McFarland bulanıklık standardına uygun (10^8 bakteri/ml) olarak steril serum fizyolojik içinde hazırlanan süspansiyonları %4 NaCl ve 6 µg/ml oksasilin içeren Mueller-Hinton agara ekilip, 35 °C'de 24 saat inkübe edildi, bir koloniden fazla üreme oksasilin (metisilin) direnci olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Olguların %54'ü erkek, %46'sı kadın; 18-60 yaş %65, >60 yaş %35 idi. Tanıları değerlendirildiğinde multiple myelom %75, non-hodgkin lenfoma %11, hodgkin lenfoma %13, plazma hücreli lösemi %1 idi. Bakteriyel kontaminasyon 216 örnekten 6'sında (%2,7) tespit edildi. Beşi *Staphylococcus epidermidis*, biri *Micrococcus species* idi.

Lökoferez yapılmasına karar verilmiş olan hastalar aferez işlemine alınmadan önce damar yolu uygunluğu açısından değerlendirildi. Damar yolu uygun olmayan hastalara kateter takılması uygun görüldü. Kateter bakteriyel kontaminasyon için önemli bir kaynaktır. Kateter kullanılan hasta oranı çalışmamızda %94 bulunmuştur.

Gram pozitif kokların etyolojik öneminin artması sonucu KNS ve *S. aureus* sepsis ve nazokomiyal bakteriyemi etkenleri arasında önemli bir yer almaktadır. Kan kültürlerinde en sıklıkla izole edilen mikroorganizmalar gram pozitif koklar, özellikle de *S. epidermidis*'dir. Bu çalışmada üreme saptanan örneklerde %83,4 oranında *S. epidermidis* birinci sırada izole edilmiştir. Diğer bir gram pozitif kok *Kocuria varians* %16,6 oranında saptanmıştır.

HKH nakli sırasında ürün kültürlerinde üreme saptanan bu 6 hastadan 2'sinde febril nötropenik atak gözlenmedi fakat hiç birinde kontamine kök hücre ürününde bulunanlarla aynı ya da farklı bir patojen kontrol kan kültürlerinde tespit edilmedi. Yine bu hastaların hiçbiri nakil sonrası 30 gün içinde sepsis nedeniyle kaybedilmedi. Kontamine ve nonkontamine ürünlerle nakil olan hastalarda ateş, engraftman kinetiği gibi kriterlerde anlamlı fark saptanmadı. Hastaların beşi melfalan 200 mg/m², biri ise BEAM (carmustine BCNU 300 mg/m², etoposide 200 mg/m², cytarabine 200 mg/m², melfalan 140 mg/m²) hazırlık rejimi ile OKHN'ne hazırlanmıştı.

Hastaların hepsinde infüzyon işleminde kullanılması için katater mevcuttu. Üreme saptanan hastaların hepsi antibiyoterapi aldı. Febril nötropeni ile takip edilen hastaların atak dönemi en uzun 6 gün sürdü. Hastaların takibinde nötrofil engraftmanının 11-19. günler, trombosit engraftmanının ise 13-15. günlerde geliştiği görüldü (Tablo-1).

Tablo-1: Kültür sonuçları pozitif saptanan hastaların klinik verileri.

Ad, soyad	Ü. Ö	E. T	F. A	İ. E	G. K	Ş. D
Tanı	MM	ABHL	MM	MM	MM	MM
Mobilizasyon rejimi	G-CSF	KT+ G-CSF	G-CSF	G-CSF	G-CSF	G-CSF
Hazırlık rejimi	Melfalan	BEAM	Melfalan	Melfalan	Melfalan	Melfalan
Nakil günü çalışılan ürün kan kültürü sonucu	Kocuria varians	S. epidermidis	S. epidermidis	S. epidermidis	S. epidermidis	S. epidermidis
Kateter varlığı (SVK)	+	+	+	+	+	+
Nötrofil engraftmanı (gün)	11. gün	13. gün	10. gün	19. gün	13. gün	11. gün
Trombosit engraftmanı (gün)	13. gün	14. gün	14. gün	13. gün	15. gün	14. gün
Febriil Atak	5. gün	12. gün	-	6. gün	-	7. gün
Antibiyotik kullanımı	Amok-klav. Pip-tazo Klaritromisin Vankomisin	Pip-tazo Klaritromisin	Pip-tazo Meropenem Vankomisin Klaritromisin	Meropenem Vankomisin Klaritromisin Trimetoprim- sülfometaksazol	Amok-klav. Siprofloksasin Pip-tazo Meropenem Vankomisin INH	Pip-tazo Klaritromisin
Ateş yanıtı	9. gün	13. gün	-	12. gün	-	8. gün
Periferik kan kültürü sonucu	-	-	-	-	-	-

MM: multiple myelom, ABHL: anaplastik büyük hücreli lenfoma, KT: kemoterapi, BEAM: carmustine BCNU 300 mg/m², etoposide 200 mg/m², cytarabine 200 mg/m², melfalan 140 mg/m², S. epidermidis: Staphylococcus epidermidis, SVK: santral venöz katater, Amok-klav: Amoksisilin klavulonik asit, Pip-tazo: Piperasilin-tazobaktam

TARTIŞMA

HKHN sürecinde farklı basamaklarda değişik nedenlerle bakteriyel infeksiyonlar ortaya çıkabilmektedir. Örneğin bu hastalarda sık olarak uzun süreli intravenöz katater kullanımını bir faktör olabilir, nakil sürecinde kontamine ürün verilmesi diğer bir faktör olabilir. Bunun oranını belirlemek bir standardizasyon basamağı olarak düşünülebilir. Biz de kendi kök hücre nakil ünitemizde hem kök hücre infüze ettiğimiz ürünlerdeki bakteriyel kontaminasyon oranını belirlemek hem de bunun sonuçlarını ortaya koymak için bu çalışmayı yaptık.

Bilimsel teknik ilerlemenin hasta tedavisine önemli bir yansıması olarak kabul edilen intravasküler erişim cihazlarının en önemli komplikasyonlarından biri bu cihazlarla ilişkilendirilen infeksiyonların oluşmasıdır. Çesitli nedenlerle ama temelde intravasküler yol amacı ile yerleştiren santral venöz kateterlerde gelişen infeksiyonlar hasta mortalitesi dahil çok ciddi komplikasyonlara yol açmaktadır. Hastane kökenli kan dolaşımı infeksiyonlarına neden olan mikroorganizmalar, büyük oranda cilt florasından kaynaklanmaktadır. Gram pozitif mikroorganizmalar infeksiyonların en az 2/3'ünden sorumlu tutulmaktadır. National Nosocomial Infections Surveillance System (NNIS) verilerine göre KNS infeksiyonları 1986–1989 arasında %27 ve S. aureus %16 olarak bildirirken, 1992–1999 yıllarını kapsayan veriler KNS'ler ve enterokokların en sık izole edilen mikroorganizmalar olduğunu göstermiştir (25).

Patah ve ark. 2001 ve 2005 yıllarında otolog ve allojeneik kök hücre toplama işlemlerini içeren bir çalışmada kök hücre ürününde KNS infeksiyon oranını %86,5 olarak bulmuşlardır. Söz konusu çalışmada bu durumun engraftman süresini uzattığını ve HKH ürününde mikrobiyal kontaminasyonun klinik etkilerinin uygun antibiyotik profilaksisiyle önlenebileceğini belirtmişlerdir (50).

Minnesota Üniversitesinde 1990 ile 2004 yıllarını kapsayan bir diğer çalışmada 409 OPKH ürününün 8'inde mikrobiyal kontaminasyon saptanmış ve oranı %2 olarak belirtilmiştir. Araştırmacılar organizmaların kök hücre

ürünün işlenmesi sırasında deri kaynaklı ve su kaynaklı mikroorganizmalar olduklarını belirtmişlerdir. Ayrıca kontaminasyonun birçok kaynağa bağlı olduğunu ve HKH toplanmasının kemik iliğinden periferik damara kaymasıyla beraber bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda kateterin de önemli bir kontaminasyon kaynağı olduğunu belirtmişlerdir, toplanan hücrelerin kök hücre işleme laboratuvarına ulaşmadan önceki kontaminasyon oranının %50'lerde olduğu, bunun da aseptik kurallara uyulmaması neticesinde meydana geldiği belirtilmiştir. Laboratuvara ulaşan ürünün kontaminasyon kaynağı olarak steril olmayan şırıngalar, kabinler ve kök hücre saklama torbalarının kullanılması belirtilmiştir (40).

Altuntaş ve ark. HKH alıcılarında meydana gelen bakteriyel ve fungal infeksiyöz komplikasyonları değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada 114 kök hücre işleminde (84 otolog, 30 allojeneik) bakılan kan kültürlerinde gram pozitif bakterileri %62,4 oranında, gram negatif bakterileri %72,6 oranında saptamışlardır. OKHN işleminde gram pozitif bakteri oranının %65,7 olduğunu ve bu gruptaki hastaların %57,9'unun katetere bağlı infeksiyonlar olduğunu belirtmişlerdir (41). Bizim çalışmamızda saptadığımız bakterilerin tamamı gram pozitif idi.

Majado ve ark. yaptığı bir diğer çalışmada 152 hastanın 617 kök hücre ürünü infüze edilmiş ve 31 ürün kültüründe bakteri üremesi tespit edilmiştir. Bu üremelerin 16'sı dondurma öncesinde iken 15'i infüzyon sonrasında saptanmıştır ve bu ürün kültürlerinin 10 tanesinde aynı mikroorganizma tespit edilmiştir (42). Eren ve ark. yaptıkları çalışmada, kan kültürlerinde kontaminasyon oranını %2, Saniç ve ark. %2,4, Akalın ve ark. %5, Köseoğlu ve ark. %4,75 olarak bulmuşlardır (42). Biz çalışmamızda ise bu oranı %2,7 olarak saptadık.

J Golay ve ark. İtalya'da yaptığı çalışmada 1643 otolog ya da allojeneik hematopoetik kök hücre transplantasyon aferez ürününün 22'si (% 1,3) kontamine saptanmıştır. Buna karşılık 73 kemik iliği ürününün 14'ü (%17,8) pozitif bulunmuştur. Bu çalışmada kontamine ürünler infüze edildiğinde hematolojik engraftman ve infeksiyon açısından herhangi bir yan etki görülmediği bildirilmiştir (44).

Jacobs MR ve ark. yaptıkları bir çalışmada kök hücre ürünleri mikrobiyal kontaminasyon insidansını %0,8 saptamıştır. Kontaminasyonlar incelendiğinde cilt florası ya da infekte SVK kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Bu ürün kültür sonuçlarında düşük virülanslı ve düşük titreli bakteriyel türler tespit edilmiş olup herhangi bir reaksiyon ile sonuçlanmadığı gözlenmiştir (45).

Dal MS ve ark. yaptığı çalışmada 333 hastanın 9'unda kontaminasyon saptandığı bildirilmiştir. Bu hastalardan 7'si otolog, 2'si allojeneik nakil olgusuydu. Bu 9 hastanın sonlanmaları incelendiğinde 8'inde febril nütropenik atak geliştiği, ortalama nütropenik ateş süresi 4 gün sürdüğü bildirilmiştir. Kontamine ürün verilen hiçbir hasta post transplant 30 gün içinde ölmemiştir. Bu hastaların antibiyotik profilaksisi almış olmalarının; ilk gün ateşi, ateş süresi, nütrofil, trombosit engraftmanı ve hastanede kalış süresi açısından olumlu sonuçlar doğurduğu görülmüştür (46).

Patah PA ve ark. 3078 HKH ürünlerinin mikrobiyolojik örneklerini incelediler ve 37 (%1,2) kontamine ürün saptadılar. Bu hastalara kültür örneklerine göre ampirik antibiyotik tedavisi verilmişti. Hiçbir hastanın kan kültüründe aynı ajan görülmemiş ve klinik ya da infeksiyöz reaksiyon gelişmemiştir. Ürünlerdeki üremenin 32'si (%86,5) KNS olarak belirlenmiştir (47).

Cheah PL ve ark. 1995 ve 2005 yılları arasındaki 606 otolog periferik kan kök hücre ürünlerinin mikrobiyal kültürlerini retrospektif analiz etti. Bunların 11'inde (%1,8) üreme saptandı (10'u KNS, 1'i *Corynebacterium accolens*). KNS üreyen 5 hastaya profilaktik antibiyotik verildi, herhangi bir enfeksiyon kliniği gelişmedi. Sadece cilt kommensali izole edilen çalışmada bu ürünlerin infüzyonu sırasında antibiyotik profilaksisi verilmesi güvenli bulunmuştur (48).

Klein MA ve ark. yapmış olduğu çalışmada kök hücre ürünlerinin mikrobiyal kontaminasyonunun nadiren meydana geldiği buna rağmen riski en aza indirmek için hekimlerin ve laboratuvar personelinin sürekli çabalarının gerektiği vurgulanmıştır. Profilaktik antibiyotikler bazı kontaminanlar için yararlıdır, ancak gram negatif kontamine ürünler verildiğinde dikkatli olunmalıdır (49).

Kozłowska–Skrzypczak M ve ark. yaptıkları çalışmada HKH ürünlerin transplantasyonu için mikrobiyal kontrol sonuçları gerekliliği vurgulanmıştır. HKH ürünlerinin mikrobiyal kontrolü, erken kontaminasyonların belirlenmesini ve kontamine ürünü atmak ya da etkili bir antibiyotik tedavisi sunmak konusunda bilinçli karar vermeyi sağlar. Hücre işleminin her bir aşaması, bakteriyel kontaminasyona neden olabilir. Minimum manipülasyon adımları, transplant materyalinin mikrobiyal saflığını arttırmak için çok önemlidir, ayrıca ürünlerin yüksek kalite standartlarını sağlamak için hava kontaminasyonunu da engellemek gereklidir (50).

Çalışmamızın infüzyon aşamasında alınan kültür örneklerinden, bakteriyel kontaminasyon tespit edilen hastalarda nakil sonrası kan dolaşımı ile ilgili infeksiyon veya KİKD infeksiyonuna rastlanmamıştır. Dolayısıyla KNS ile kontamine olmuş olan kök hücre ürünlerinin hastaya verilmesinin ciddi bir klinik önemi olmadığı düşünülebilir. Klinik bir bulgu görülmemesinin bir nedeni kontaminasyonun virulansı düşük bir bakteri olan KNS olmasıyla açıklanabilir. Bir diğer neden ise çoğu hastanın nakil aşamasında altta yatan hastalık ve genel durum açısından iyi olması olabilir.

KNS ile kontamine olmuş ürünler hastaya verilirken bu etkene yönelik profilaktik antibiyotik kullanılmasına gerek olmamaktadır. Kateter enfeksiyonu insidansının düşürülebilmesi amacıyla profilaktik antibiyotik kullanımının etkinliği tartışmalıdır. Bir mikroorganizma grubuna etkili bir antibiyotik, diğer yandan antibiyotiğe dirençli başka bir mikroorganizma grubunun ortaya çıkmasına zemin hazırlayabilir. Kateter enfeksiyonu etkeni mikroorganizmaların bir özelliği de çoğul dirençli olmalarıdır. Damar içi kateter örneklerinden izole edilen *S. aureus*'larda metisiline direnç oranının %90'ın üzerine çıktığı bildirilmiştir (43). Çalışmamızda metisiline dirençli mikroorganizmalara rastlanmamıştır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

HKH toplama, işleme ve transplantasyon standartlarının asıl amacı, hematopoetik projenitör hücre transplantasyonunda gerçekleştirilen tıbbi ve laboratuvar uygulamaların kalitesini artırmaktır. Bundan dolayı hasta ile ilgili etkenler ile OKHN toplama aşamaları iyi kontrol edilmelidir.

Kateter infeksiyonları alınan tüm önlemlere ve geliştirilen yeni yöntemlere rağmen günümüzde hâlâ sorun olmaya devam etmektedir. Kateter infeksiyonlarından korunma konusunda alınabilecek en etkin önlemlerden birisi cilt temizliği veya antisepsisi kurallarına uyulmasıdır. Uygun bir el temizliği bu konuda ciddi bir önlem olmaktadır.

Kök hücre ürünlerinin infüzyonu öncesinde ürünün çözülmesi sırasında kullanılan su banyosunun suyunun uygun aralıklarla sterilizasyonu ve steril distile su ile doldurulması su etkenli kontaminasyonları önleyecektir.

Otolog periferik kan kök hücre güvenli bir şekilde toplansa da kriyoprezervasyon ve eritilmesi sırasında el hijyeninin korunması, işlem öncesi ve sonrası el hijyeni sağlanmasının gerekliliği, personelin eğitimi, eğitimin devamlılığının sağlanması önemlidir. Kök hücre ürünlerinin kontaminasyon riskini en aza indirmek için hekim ve laboratuvar personeli sürekli çaba içinde olmalıdır. Kontaminasyon oranlarının düşürülmesinde aferez ekibinin eğitiminin ve bilinçlendirilmesinin, infeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanmasının rolü büyüktür.

Çalışmamızda S. Epidermidis ile kontaminasyonların giriş yolunun kateter kaynaklı veya üründen örnek alma sırasında olabileceği; Micrococcus species kontaminasyonunun ise dış çevre ve deri florası kaynaklı olabileceği düşünüldü. Literatürde pozitif kültürlerin çoğu deri florası ve dış çevre kaynaklı kontaminasyonlardır. Çalışmamızda periferik kök hücre aferezi işlemlerinde mevcut kontaminasyon insidansının kabul edilir düzeyde olduğu görülmüştür. Bu konuda birçok güncel çalışmanın olduğu ve incelendiğinde diğer çalışmalarda da kontaminasyon yüzdesinin 1-7 arasında tespit edildiği görülmüştür. Ürün kültürlerinde gram negatif kontaminasyon saptanması durumunda profilaktik antibiyoterapi verilmesi ve gerekli erken tedbirlerin

alınması önem arz etmektedir, bunun dışındaki kontaminasyonlarda prognoz genellikle iyi seyretmiştir. Buna göre periferik kök hücre transplantında ürün kontaminasyonu açısından mikrobiyolojik kontroller yapılmalı, kontaminasyonu önleyici eğitim ve incelemeler devam etmelidir. Nakil günü çalışılan ürün örneklerinde genellikle KNS izole edilmiş olup hastadan alınan kan kültürleri ile uyum saptanmamıştır.

Merkezimiz JACIE akreditasyonuna sahip olmamasına rağmen; akredite edilmiş merkezler ile benzer verilere sahiptir. Bu da merkezimizin hücre toplama, işleme ve transplantasyon basamaklarındaki standartlara sahip olmasına ve personelin eğitiminin, pozisyonlarının, sorumluluklarının yakından takip edilmesine bağlanabilir.

KAYNAKLAR

1. Balçık Ş Ö, Dağdaş S, Güler S, ark. Otolog periferik kök hücre toplama rejimlerinin CD34(+) hücre sayısı üzerine etkisi: Tek merkez deneyimi. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Science. 2008; 28: 640–7.
2. Gurman G, Kahveci G, Akan H, et al. Allogeneic peripheral stem cell transplantation a second transplant for severe aplastic anemia. Bone Marrow Transplant. 1995;15(3): 485–6.
3. Özmen S, Fındıkçioğlu F, Siemionow M. Kök hücreler. Türk Plastik Rekonstruktif Estetik Cerrahi Dergisi. 2006;14(3): 190-3.
4. Ural AU. Kök hücreler. TOTBID (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi.2006; 5(3–4): 140–5.
5. Çetin M, Ertem M. Çocukluk çağı hastalıklarında kemik iliği transplantasyonu endikasyonları. Katkı 2002; 23: 540-50.
6. Devetten. Clinical manual of blood and bone marrow transplantation.2007; 21: 2316-23.
7. Beşışık SK. Tedavi etmek amacıyla yapılan lökaferez. Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences. 2005; 1(19): 45–9.
8. Karakuş S. Kateterle kan ürünü dışındaki tedavi uygulamaları. Türk Hematoloji Derneği-Hematoloji pratiğinde uygulamalı kateterizasyon kursu. 2006: 44-7.
9. Wang. Stem cell mobilization and transplant. Transfusion. 2007; 47: 2207–16.
10. Ünal A, Hacıoğlu Kabukçu S. Kök hücre aferezi. Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences.2007; 3(36) :134-42.
11. Demirer T. Periferik kök hücre mobilizasyon teknikleri ve mobilizasyona etkili faktörler. Türk hematoloji derneği kan ve kemik iliği transplantasyonu kursu. 2004: 84–91.
12. Çağırğan S. Hematopoetik kök hücre mobilizasyonu. Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences. 2005;1(19): 64–70.
13. Yılmaz MÇ. Pediatrik hastalarda periferik kök hücre nakli uygulamaları ve hemşirelik bakımı. XIII. TPOG ulusal pediatrik kanser kongresi. 2004: 133-9.
14. Larrea L, De La Rubia J, Soler MA, et al. Quality control of bacterial contamination in autologous peripheral blood stem cells for transplantation. Haematologica.2004; 89: 1232–7.
15. Undar L. Kan ve ilik işlenmesi, kriyopreservasyonu, depolanması ve transportasyonu. Türk hematoloji derneği kan ve kemik iliği transplantasyonu kursu. 2004: 60-4.
16. İlhan O. Türkiye’de JACIE. 4.Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi. 2007: 26-7.
17. Koç Y. Kök hücre toplanması, işlenmesi ve saklanması GMP kuralları. 4.Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi. 2007: 24-5.
18. Oğuzkurt L. İntravenöz kateter uygulamalarında enfeksiyon dışı komplikasyonlar. Türk hematoloji derneği-Hematoloji pratiğinde uygulamalı kateterizasyon kursu. 2006: 29-32.

19. Arat M. Orta çağda aferez, günümüzde aferez. XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi IV. Hematoloji ilk basamak kursu. 2004: 27-35.
20. Karayavuz A. Kateter hemşireliği. Türk hematoloji derneği–Hematoloji pratiğinde uygulamalı kateterizasyon kursu. 2006: 58–61.
21. Oğuzkurt L. Kısa dönemli (tünelsiz) kateter uygulamaları. Türk hematoloji derneği-Hematoloji pratiğinde uygulamalı kateterizasyon kursu. 2006: 23-6.
22. Beşışık SK. Hematoloji pratiğinde intravenöz kateter kullanım stratejileri. Türk hematoloji derneği-Hematoloji pratiğinde uygulamalı kateterizasyon kursu. 2006: 7-12.
23. Arat M. Donör aferezi ve terapötik aferezde damar yolu sağlanması. 1. Ulusal Hemaferes Kongresi. 2003: 25–38.
24. Timurkaynak F. Kateter bakımı ve takibi. Türk hematoloji derneği–Hematoloji pratiğinde uygulamalı kateterizasyon kursu. 2006: 55-7.
25. Ulusoy S, Akan H, Arat M, ark. Damar içi kateter infeksiyonlarının önlenmesi kılavuzu. Hastane İnfeksiyonları Dergisi. 2006; 10(2): 113–42.
26. Altuntaş F, Yıldız O, Ünal A. Hematolojik maligniteli hastalarda intravenöz kateter infeksiyonları. Erciyes Tıp Dergisi. 2004; 26(1): 25–32.
27. İlhan O, Uskent N, Arslan Ö, et al. National survey of hemapheresis practice in Turkey. Transfusion Science. 2000; 22: 195–201.
28. Aygün G. Kateter ilişkili bakterimi yönetimi. Yoğun Bakım Dergisi. 2006; 6(1): 11–7.
29. Öztürk R. Damar içi kateter infeksiyonları. Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane İnfeksiyonları. 2002: 1–23.
30. Ağalar C, Gürdal H, Gürbüz P. İnvasküler kateter infeksiyonlarına tanısal yaklaşım. DPÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2004; 6: 99-100.
31. Altun HU, Şener B. Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci. Hacettepe Tıp Dergisi. 2008; 39(2): 82–8.
32. Özkocaman V. Tüneli santral venöz kateterle (hickman tipi) ilişkili infeksiyonların tanımlanması ve tedavisi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2002; 28(3): 101–3.
33. Öncü S. Santral venöz kateter infeksiyonları ve tedavisi. Klimik Dergisi. 2003; 16(2): 45–51.
34. Taşova Y. Kateterlerde infeksiyon riski ve önlenmesi. Türk hematoloji derneği- Hematoloji pratiğinde uygulamalı kateterizasyon kursu. 2006: 33-7.
35. Fidan I, Yüksel S, Gürel ÇF. Koagülaz negatif stafilokok suşlarında biyofilm oluşumu ve siprofloksasinin biyofilm üzerine etkisi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2005; 35: 149–52.
36. Dündar V. Metisiline dirençli stafilokok infeksiyonları. Klimik Dergisi 2000; 13: 26–7.
37. Ovalı E. Kök hücre işlemlerinde kalite garantisi: İyi üretim uygulamaları. Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences. 2006; 2(19): 78–82.
38. Ünal A, Sarı İ. Kök hücre aferezi. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Science. 2005;1(19): 58–63.
39. Berz D, McCormack ME, Winer ES, Colvin GA, Quesenberry PJ. Cryopreservation of Hematopoietic Stem Cells. Am J Hematol. 2007; 82(6): 463–72.

40. Klein MA, Kadidlo D, McCullough J, McKenna DH, Burns LJ. Microbial contamination of hematopoietic stem cell products: Incidence and clinical sequelae. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2006; 12: 1142–9.
41. Altuntaş F, Yıldız O, Eser B, et al. Microbiologically documented infections following peripheral blood stem cell transplantation: single center experience. *Turkish Journal of Haematology*. 2005; 22(3): 133–45.
42. Majado MJ, Garcí'a-hernandez A, Morales A, et al. Influence of harvest bacterial contamination on autologous peripheral blood progenitor cells post-transplant. *Bone Marrow Transplantation*. 2007; 32: 121–5.
43. Laupland KB, Zygun DA, Davies HD, et al. Population-based assessment of intensive care unit-acquired bloodstream infections in adults: Incidence, risk factors, and associated mortality rate. *Critical Care Medicine*. 2002; 30(11): 2462-7.
44. J Golay. Utility of routine evaluation of sterility of cellular therapy products with or without extensive manipulation: Best practices and clinical significance. *Cytotherapy*. 2018; 20: 262-70.
45. Jacobs MR, Good CE, Fox RM, Roman KP, Lazarus HM. Microbial contamination of hematopoietic progenitor and other regenerative cells used in transplantation and regenerative medicine. *Transfusion*. 2013; 53 (11): 2690-6.
46. Dal MS, Tekgündüz E, Çakar MK, et al. Does microbial contamination influence the success of the hematopoietic cell transplantation outcomes? *Transfus Apher Sci*. 2016; 55(1): 125-8.
47. Patah PA, Parmar S, McMannis J, et al. Microbial contamination of hematopoietic progenitor cell products: clinical outcome. *Bone Marrow Transplant*. 2007; 40(4): 365-8.
48. Cheah PL, Ong CW, Crispin P. Microbial contamination of autologous peripheral blood stem cell products: incidence, clinical outcome, quality control and management strategies. *Pathology*. 2011; 43(4): 340-5.
49. Klein MA, Kadidlo D, McCullough J, McKenna DH, Burns LJ. Microbial contamination of hematopoietic stem cell products: incidence and clinical sequelae. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006; 12(11): 1142-9.
50. Kozłowska– Skrzypczak M, Bembnista E, Kubiak A, et al. Microbial contamination of peripheral blood and bone marrow hematopoietic cell products and environmental contamination in a stem cell bank: a single–center report. *Transplant Proc*. 2014; 46(8): 2873-6.

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında ve uzmanlık eğitim sürecimde desteğini benden esirgemeyen çok değerli tez danışmanım, Hematoloji Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Fahir ÖZKALEMKAŞ'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile eğitimime destek olan, şahsıma hekimlik sanatını sevdiren, mesleki bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım tüm değerli bölüm hocalarıma,

Tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan Enfeksiyon ve Mikrobiyoloji AD öğretim üyesi Prof. Dr. Halis AKALIN'a ve diğer Enfeksiyon ve Mikrobiyoloji AD öğretim üyelerine,

Hayatımın her aşamasında daima yanımda olan, bana kazandırdıkları hayat görüşü ve bugünlere gelmemdeki büyük emekleri dolayısı ile daima müteşekkire kalacağım annem ve babama,

Hayatıma girdiği günden beri varlığı ile daima mutlu ve huzurlu olduğum sevgili eşim Uzm. Dr. Ali ATAY'a

Sonsuz teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

09.05.1989'da Ankara'da doğdum. İlköğretimi Beypazarı Gazipaşa İlköğretim Okulu'nda, liseyi Beypazarı Nurettin Karaoğuz Vakfı Anadolu Lisesi'nde bitirdim. 2007 yılında kazandığım Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2013'te mezun oldum. Kasım 2013-Aralık 2013 arasında Beypazarı Devlet Hastanesi'nde pratisyen hekim olarak görev yaptıktan sonra Haziran 2014'de Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım. Ocak 2016'dan itibaren halen aynı bölümde çalışmaya devam ettiğim Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı bünyesindeyim.

Araş. Gör. Dr. Beyza ATAY

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı