

T. C.

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**KAN KÜLTÜRLERİNDE İDEAL ÖRNEK ALMA ZAMANI, SAYISI
VE ATEŞLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. TOLGA BAŞKESEN

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. KENAN DEĞERLİ

MANİSA, 2011

ÖNSÖZ

Hayat arkadaşım, sevgili eşim Gülay ve canım oğlum Oğuzalp'e, çok değerli anne ve babama,

Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitimim boyunca bilimsel bir eğitim ve araştırma ortamı sağlayan, her zaman destek ve hoşgörüsünü gördüğüm eski ve yeni Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanları Sayın Prof. Dr. Süheyla Sürücüoğlu ve Prof. Dr. Tamer Şanlıdağ'a; bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşan başta tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Kenan Değerli olmak üzere Anabilim Dalımızın öğretim üyeleri; Prof. Dr. Beril Özbakkaloğlu, Doç. Dr. Semra Kurutepe, Doç. Dr. Sinem Akçalı, Doç. Dr. Nuri Özkütük, Yard. Doç. Dr. Talat Ecemiş'e ve tezime birçok aşamasındaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Hörü Gazi'ye; ayrıca uzmanlık eğitimim süresince benden klinik tecrübelerini esirgemeyen ve tezime katkılarından dolayı Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri, Sayın Prof. Dr. Özlem Tünger ve Doç. Dr. Banu Çetin'e, yine tezime katkılarından dolayı Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Melek Çivi'ye, tezimin istatistik çalışmalarında yardımcı olan Halk Sağlığı anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Gönül Dinç Horasanlı'ya, ihtisasım sırasında her zaman uyum içinde çalışmalarıyla huzurlu bir iş ortamını paylaştığım asistan arkadaşlarıma, laborant arkadaşlarıma, isimlerini sayamadığım üniversitemizin tüm çalışanlarına, sonsuz teşekkürler ederim.

Dr. Tolga Başkesen

İÇİNDEKİLER

ÖZET

ABSTRACT

KISALTMALAR

TABLO LİSTESİ

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. KAN DOLAŞIMI ENFEKSİYONLARI	2
2.1.1. Bakteriyemi ve Sepsis	2
2.1.2. Bakteriyeminin Tipleri	2
2.1.3. Kan Dolaşımı Enfeksiyonlarında Prognoz	3
2.2. KAN KÜLTÜRÜ	3
2.2.1. Kan Kültürü İçin Alınması Gereken Örnek Miktarı	3
2.2.2. Kullanılan Besiyeri	4
2.2.3. Kan Kültürlerinde Kan/Besiyeri Oranı	4
2.2.4. Kullanılan Antikoagülanlar	4
2.2.5. Antimikrobiyallerin Nötralizasyon ve İnaktivasyonu	4
2.2.6. İnkübasyon Ortamı	5
2.2.6. Şişenin Çalkalanması	6
2.2.7. Pasajlar	6
2.2.8. İnkübasyon Süresi	6
2.3. KAN KÜLTÜRÜNÜ ETKİLEYEN FAKTÖRLER	6
2.3.1. Kontaminasyon	6
2.3.2. Kan Örneklerinin Sayısı	7
2.3.3. Kan Kültürü Alınma Zamanı	7
2.3.4. Pozitif Kan Kültürlerinin Yorumlanması	8
2.4. ATEŞ	8

3. GEREÇ VE YÖNTEM	11
4. BULGULAR	13
5. TARTIŞMA	18
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	24
7. KAYNAKLAR	25

KAN KÜLTÜRLERİNDE İDEAL ÖRNEK ALMA ZAMANI, SAYISI VE ATEŞLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de hastane kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonları (KDE) yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan hastalarda önemli morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedirler. Günümüzde KDE düşünülen hastalarda, kan kültürü etiyolojik ajanın saptanmasında ve tanının doğrulanmasında hala en önemli tanı araçlarından biri olarak değerlendirilmektedir.

Son yıllarda kan kültürü teknolojisinde büyük ilerlemeler olmuş, mikroorganizmaların saptanma zamanları kısalmıştır. Ancak tüm gelişmelere rağmen kan kültürü pozitiflik oranlarının hala yeterli düzeyde olmadığı bildirilmektedir. Bu nedenle kan kültürü gibi çok önemli bir tanı aracının, daha verimli kullanılabilmesi için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır.

Kan kültürü almak için endikasyonlar çeşitlidir ve henüz standardize edilmemiştir. Günümüzde, kan kültürü alınmasının en sık endikasyonu hastanın ateşininin yükselmesidir. Ancak bazı çalışmalarda ateşle kan kültürü pozitifliğinin ilişkisinin bulunmadığı da gösterilmiştir.

Bu çalışmada, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Anestezi Yoğun Bakım Ünitesinde (AYBÜ) yatan ve kan dolaşımı enfeksiyonu düşünülen hastalarda örnek alma zamanının ve sayısının ateşle ilişkisinin araştırılması, izole edilen mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç durumlarının belirlenmesi ve hastanemiz AYBÜ'de yatan hastaların ampirik tedavi protokollerinin oluşturulmasına yardımcı olunması amaçlanmıştır.

Çalışmaya Haziran 2010 - Mayıs 2011 tarihleri arasında AYBÜ yatan 45 hasta dahil edilmiştir. Hastalardan, birinci örnek klinik hekimin uygun gördüğü saatte (0. saat) ve ilk örnekten sonraki ikinci ve dördüncü saatlerde olmak üzere toplam 300 kan kültürü örneği alınmıştır. Örnek alımıyla eş zamanlı olarak hastaların ateşleri kaydedilmiştir.

Kan dolaşımı enfeksiyonu ataklarında, klinisyenin uygun gördüğü zamanda alınan ilk örneklerin (0. saat örnekleri) sadece 39'unda (%39) üreme saptanırken, 2. saatte alınan örneklerinin 49'unda (%49), 4. saat örneklerinin ise 44'ünde (%44) bakteriyel üreme saptanmıştır. Ayrıca 0. ve 2. saat örneklerinde toplam pozitiflik oranı % 55'e ve 0., 2. ve 4. saatlerde alınan örneklerdeki toplam pozitiflik oranının ise % 62'ye çıktığı saptanmıştır.

Ateşin yükselme döneminde olduğu 30 KDE atağında alınan 90 örneğin % 50'sinde, ateşin düşüş döneminde olduğu 43 KDE atağında alınan 129 örneğin % 53,5'inde üreme saptanırken, ateşi olmayan 27 KDE atağında alınan 81 kan örneğinde de % 22,2 oranında üreme tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, KDE düşünülen hastalarda ilk örnek klinisyen hekimin uygun gördüğü zamanda olmak üzere, 2 saat ara ile 3 kan kültürü örneği uygulaması ile kan kültürlerinde etken saptama oranlarında artış olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle ateşe bakılmaksızın belli aralıklarla örnek alınmasının KDE tanısında yararlı olacağı düşünülmüştür. Aynı zamanda örnek sayısını artırarak yapılacak ileri çalışmalarla ve bu çalışmaların birbiriyle karşılaştırılması ile kan kültürü gibi çok önemli ve faydalı bir tanı aracının daha verimli kullanımının sağlanabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kan Dolaşımı Enfeksiyonu, Kan Kültürü, Pozitiflik Oranı

**INVESTIGATION THE IDEAL TIMING AND THE NUMBER OF BLOOD
CULTURE SAMPLING, AND THE RELATION BETWEEN BLOOD CULTURE
AND FEVER**

ABSTRACT

Nosocomial (hospital-acquired) bloodstream infections (BSIs) continue to be an important cause of morbidity and mortality for inpatients of intensive care units (ICUs) in our country, as well as all over the world. Today, blood culture is still considered as one of the most important diagnostic tools to identify the etiologic agent and also to confirm the diagnosis of BSI suspected patients.

Recent technical advances in blood culture technology have decreased the time to detection of causative microorganisms. However, despite all improvements, it is still reported that blood culture positivity rates are not satisfactory. Therefore, various studies are conducted to ensure more efficient use of the blood culture, which is generally recognised as a very important diagnostic tool.

Indications for blood culture are various and have not been standardized yet. Today, the most common indication to obtain a blood specimen for blood culture is the patient's fever. However, some studies have also shown that fever has not correlation with positivity of the blood culture.

In this present study, it was aimed to investigate the relationship between the timing and the number of blood sampling for blood culture and fever, furthermore, to determine the current status of antibiotic resistance of the isolated bacteria, so, to assist in establishing empirical treatment protocols for the inpatients, who assumed to have a BSI, in Anesthesia Intensive Care Unit (AICU), Faculty of Medicine, Celal Bayar University.

45 patients who were hospitalized in AICU in the period between June 2010 and May 2011 were included in the study. A total of 300 blood cultures sample were taken from patients. The first sample was collected when it was deemed appropriate by the clinician (0. h), and additionally two other samples were collected at the second and fourth hours after the first sample. Fever of the patiens were also recorded simultaneously with the blood sampling.

In BSI attacks, bacterial growth was detected in only 39 (39%) of the samples collected at 0. h, while in 49 (49%) and 44 (44%) of the samples, collected at 2h. and 4.,

respectively. Furthermore, total positivity rate was found to reach 55% for the samples collected at 0. and 2. hours, while 62% for the samples taken at 0., 2., and 4.h.

Bacterial growth was detected in 50% of the 90 blood samples collected while fever was rising in 30 BSI attacks, and 53.5% of the 129 samples collected while fever was decreasing in 43 BSI attacks, also in 22.2% of the 81 samples collected in the afebrile periods of the 27 BSI attacks.

As a conclusion, detection rate of the causative microorganisms was observed to increase when blood specimens were collected 3 times at 2 hours intervals, as the first sample to be collected when the clinician deems it appropriate. Therefore, blood sample collection at regular intervals, regardless of fever, is thought to be useful in the diagnosis of BSIs. It is also believed that, conducting further studies with larger samplings, and comparing data from these various studies would definitely ensure more effective use of blood culture, which is considered as a very useful diagnostic tool.

Key Words: Blood Stream Infection, Blood Culture, Positivity Rate

KISALTMALAR

AYBÜ	Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CNTF	Ciliary Neurotrophic Factor
ESCMID	The European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
ESGNI	Avrupa Hastane Enfeksiyonları Çalışma Grubu
KDE	Kan Dolaşımı Enfeksiyonu
KNS	Koagülaz Negatif Stafilokok
OKKS	Otomatize Kan Kültür Sistemi
PAF	Platelet-activating Factor
SMKKS	Sürekli Monitörize Kan Kültür Sistemi
SPS	Sodyum Polyanetholsulfonate
SXT	Trimetoprim-Sulfometeksazol
TZP	Piperasilin-Tazobaktam
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesi

TABLO LİSTESİ

Tablo-1 Örnek alınma zamanına göre pozitiflik oranları

Tablo-2 Pozitiflik oranlarının kümülatif artışı

Tablo-3 0., 2. ve 4. saatlerde alınan örneklerde izole edilen etkenler

Tablo-4 En fazla sayıda örnek alınan hastanın üreme sonuçları

Tablo-5 Ateş dönemlerine göre pozitiflik oranları

Tablo-6 İzole edilen mikroorganizmaların dağılımı

Tablo-7 Gr (-) bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları

Tablo-8 Gr (+) bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları

1. GİRİŞ

Günümüzde kan dolaşımı enfeksiyonları (KDE) hastanelerde önemli morbidite ve mortalite nedenidirler. İnvaziv işlemlerin sıkça uygulandığı yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan hastalarda daha sık görülmektedir ve bu birimlerde mortalite oranları %60'lara kadar ulaşabilmektedir. Erken tanı ve uygun tedavi, enfeksiyon kontrol önlemleri ve mortalite açısından büyük önem taşımaktadır (1, 2).

KDE'dan en sık izole edilen etkenler gram pozitif koklar ve non fermentatif gram-negatif basillerdir. Son yıllarda bu mikroorganizmalar arasında görülen direnç nedeniyle KDE tedavisinde problemler yaşanmaktadır. Bu nedenle KDE hastalarından alınan kan kültürlerinde etken mikroorganizmanın saptanması ve *in vitro* antibiyotik duyarlılık testlerinin hızla yapılıp raporlanması mortalitenin azaltılmasında büyük önem taşımaktadır (2).

Günümüzde KDE saptanmasında kan kültürü hala en önemli tanı araçlarından biridir. Ancak kan kültürü sonuçlarını etkileyen birçok faktör vardır. Bu faktörlerin başlıcaları örneğin alınma zamanı, alınan kan kültürünün hacmi, kültür sayısı, kullanılan besiyeri ve cilt temizliğinin uygun yapılmasıdır. Tüm bu faktörlerle ilgili çeşitli araştırmalar yapılmış olup kan kültürlerinin yorumlanmasına ve KDE tanısına yönelik belirli kriterler ortaya konmuştur (3).

KDE hastalarında, ideal örnek alma zamanının, üşüme titreme dönemi ve ateşin yükselmeye başladığı dönem olduğu belirtilmektedir (4, 5, 6). Bununla birlikte ateşin başladığı dönemde kan kültür örneğinin alınmasının, kültürün pozitif saptanması ile bir ilişkisinin olmadığını gösteren az sayıda yayın da mevcuttur (2).

Dünyada ve ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda kan kültürü pozitiflik oranları % 8-14 gibi çok düşük oranlarda seyretmektedir (3). Bu da KDE tanısında çok önemli bir araç olan kan kültürünün yeterli verimlilikte kullanılmadığını düşündürmektedir.

Bu çalışmanın amacı, kan dolaşımı enfeksiyonlarının tanısında örnek sayısının belirlenmesi, örnek alma zamanının ateşle ilişkisinin araştırılması ve hastanemizin Anestezi Yoğun Bakım Ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalarının dağılımını ve antibiyotiklere direnç durumlarını belirleyerek ampirik tedavi protokollerinin belirlenmesine yardımcı olmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KAN DOLAŞIMI ENFEKSİYONLARI

2.1.1. Bakteriyemi ve Sepsis

'Emi' eki dolaşım sistemine ait bir ifadedir. Bakteriyemi, fungemi ve viremi; bakteri, mantar ve virüslerin vasküler sistemde dolaştığı durumlardır. Buna karşılık sepsis; mikroorganizma ve toksinlerin etkisi ile vücut ısısının artması veya azalması, taşikardi, mental durum değişiklikleri, deri değişiklikleri, hiperventilasyon, toksisite gibi bulgularla karakterize bir klinik sendromdur. Dolaşımdaki bakteriler, fagositlerce yok edilmelerinden daha hızlı çoğalırsa sepsis oluşur. Semptomlar yangı hücrelerince oluşturulan mikrobiyal toksinler veya sitokinlerce oluşturulur (7).

2.1.2. Bakteriyeminin Tipleri

Bakteriyemi; geçici, intermittant veya devamlı olabilir ve bakterinin kan dolaşımına girme mekanizmalarını yansıtır. Geçici bakteriyemi genelde normal floranın membranlardan minimal travmayla kana geçtiği durumlarda görülür (Diş fırçalama, ıkınma, tıbbi işlemler vb.). Enfekte alandan; ekstrasvasküler abseler, sellülit, ampiyem, peritonit veya septik artrit gibi vücut boşluğu enfeksiyonlarından bakterilerin kana periodik olarak karıştığı durumlarda intermittant bakteriyemi oluşur. Enfeksiyon intravasküler ise; bakteriyel endokardit, anevrizma, arteriovenöz fistül, enfekte intraarteryel kateter veya kanüller gibi durumlarda devamlı bakteriyemi görülür (8).

Primer bakteriyemi: Kan kültüründen patojen olduğu bilinen bir mikroorganizmanın izole edilmesi ve bu patojenin başka bir yerdeki enfeksiyon ile ilişkili olmaması primer bakteriyemi olarak adlandırılır. İntravasküler katetere bağlı bakteriyemi de primer bakteriyemi olarak ele alınır.

Sekonder bakteriyemi: Başka bir yerdeki enfeksiyonla ilişkili patojen kan kültüründe ürerse bu sekonder bakteriyemi olarak kabul edilmelidir. Sıklıkla primer odak saptanamaz (8). Ancak bakteriyemik pnömokokkal pnömoni gibi bir organdaki enfeksiyon etkeni de kan dolaşımına geçip geçici bakteriyemi yapabilir ve bu durumda kan kültürü ile etken saptanabilir (9). Bakteriyemi uzak organlarda dissemine enfeksiyona da neden olabilir ve metastatik enfeksiyon olarak isimlendirilir (8).

2.1.3. Kan Dolaşımı Enfeksiyonlarında Prognoz

Mikroorganizmaların kan dolaşımından temizlenmesinde pek çok mekanizma rol oynar. Sağlıklı ve immün sistemi normal kişilerde bakteriler genelde kandan 30-45 dak.'da uzaklaştırılır. Bakterilerin temizlenmesinde karaciğer ve dalak primer role sahiptir. İntravasküler nötrofillerin rolü oldukça küçüktür. Kapsüllü bakterilerin elimine edilmesi ise daha zordur ama spesifik antikorlar (opsoninler) bunu kolaylaştırır. İmmün sistemi yetersiz yada baskı altındaki hastalarda ise dolaşımdaki bakteriler saatlerce temizlenemez (8). Sonuç olarak kan dolaşımı enfeksiyonlarında prognoz; bakteriyeminin toplumsal veya hastane kaynaklı olması, immün sistemin durumu, mikroorganizmanın tipi ve hastanın yaşı gibi birçok faktöre bağlıdır (10,11,12,13). Mortalite oranı da % 35 ile % 60 arasında değişmektedir (14,15,16).

2.2. KAN KÜLTÜRÜ

Son yirmi yılda mikroorganizmaların saptama ve tanımlanmasında geleneksel, tüpe dayalı yöntem uygulamasından uzaklaşmış, cihazlara dayalı metotların kullanımına doğru bir yönelim görülmüştür. Mikrobiyolojide otomasyon ilk kez 1970'li yılların başında yarı otomatik kan kültürü cihazlarının kullanımı ile başlamış, bunu bakteri tanımlama ve duyarlılık testlerinde ilk cihaz sistemleri izlemiştir. Otomasyon eğilimi, sürekli-monitorize kan kültürü sistemlerinin (SMKKS) ve daha hızlı anti-mikrobiyal tanımlama ve duyarlılık sistemlerinin kullanılmaya başlanması ve gelişimi ile hız kazanmıştır. 1990'lı yıllarda otomatik SMKKS'lerin kullanılmasıyla manuel metotlardan uzaklaşmıştır. Ancak, yeni otomatik teknolojilere rağmen, modern kan kültürü metotları için bilimsel dayanak oluşturan temel prensipler hala önemini korumaktadır (3).

2.2.1. Kan kültürü için alınması gereken örnek miktarı

Kan kültürü miktarı, KDE'nin saptanmasında en önemli değişkenlerden biridir (17,18,19). Erişkinlerdeki KDE'nin, her 10 ml'lik kanda bir organizmadan daha az sayıda mikroorganizma ile olabileceği iyi bir şekilde belgelenmiştir. Çalışmalar kan kültürünün tanısallık etkinliği ile kültür için alınan kan miktarı arasında doğrudan bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (17,20,21,22,23). Kurallar çerçevesinde yetişkinlerden her kültür için 20-30 ml kan alınması önerilmektedir (24).

2.2.2. Kullanılan Besiyeri

İlke olarak bir aerop ve bir anaerop ekim için iki besiyeri kullanılmadır (25). Hiçbir besiyeri ya da ticari ürün tüm mikroorganizmaları en uygun şekilde saptayacak ortamı sağlayamaz (3). Aerop ekimler için triptik ya da triptikas soya buyyonu, Columbia buyyonu, beyin-kalp enfüzyon buyyonu, Brucella buyyonu gibi besiyerleri kullanılır. Anaerop ekimler için içerisinde %0.05 cysteine içeren Columbia buyyonu, redüklenmiş beyin-kalp infüzyon buyyonu, Thioglycolat'lı buyyon kullanılır. Bakterilerin L formlarının üretilmesi istenildiğinde içlerinde % 10-30 sukroz eklenmiş hipertonic besiyerleri kullanılır (25).

2.2.3. Kan kültürlerinde Kan/Besiyeri Oranı

Kanda bulunan lökositler, kompleman ve lizozim gibi birçok madde mikrobiyal üremeyi inhibe edebilir. Ayrıca hasta kan örnekleri alınmadan önce antimikrobiyal almış olabilir (3). Sıvı besiyeri içindeki kan dilüsyonunun en az 1:5 oranında olması, muhtemelen doğal inhibitör madde konsantrasyonunu ve antimikrobiyal ajanları subinhibitör düzeyine düşürerek, teşhisi kolaylaştırdığı gösterilmiştir (26,27).

2.2.4. Kullanılan Antikoagülanlar

Kan kültüründeki üreme kan pıhtılaşırca azalabilir. Bu nedenle, bütün sıvı besiyeri bazlı kan kültürü besiyerleri antikoagülan içerirler. %0.025-0.050 konsantrasyonundaki sodyum polyanetholsulfonate (SPS) en sık kullanılan maddedir. Pıhtılaşmanın inhibe edilmesine ek olarak SPS, lizozimi inhibe eder, aminoglikozid antibiyotiklerini inaktive eder, kompleman kaskadı ve fagositozu inhibe eder. Bazı olumsuz özellikleri de vardır. *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptobacillus moniliformis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Francisella tularensis* ve *Moraxella catarrhalis*'in üremesini inhibe eder (3).

2.2.5. Antimikrobiyallerin Nötralizasyon ve İnaktivasyonu

Birçok hasta, kan örnekleri alınmadan önce antimikrobiyallerle tedavi edildiğinden ve bu da test duyarlılığını potansiyel olarak azaltacağından, bazı üreticiler bu ajanları

bağlayan, absorbe eden ya da bu maddeleri inaktive eden besiyerleri tasarlamışlardır (3). BACTEC kan kültürü sistemi (BD Diagnostics) küçük cam boncuklar üzerinde antibiyotik bağlayıcı reçine kullanırken, BacT/Alert kan kültür sistemi (bioMerieux Inc., Durham, N.C.) aktif kömür tozu kullanmaktadır. Her iki sistemde de bu katkı maddelerini içeren kültür ortamı, katkı maddesi içermeyen ortama (28, 29, 30, 31) kıyasla, özellikle stafilokok ve mayalar gibi çeşitli mikroorganizmaların saptanmasını arttırmış ve teorik olarak etkili antimikrobiyal tedavi alan hastalarda (32) üremeyi arttırmıştır. Reçine ve aktif kömür tozu içeren besiyerinde, katkı maddesi içermeyen besiyerine oranla daha fazla koagülaz-negatif stafilokok kontaminasyonu saptanabilir (30, 31).

2.2.6. İnkübasyon Ortamı

Geleneksel kan kültürü iki kan kültürü şişesinden oluşur; bir tanesi aeroblar ve fakültatif anaerobik bakterilerin üremesini sağlayacak, diğeri ise fakültatif organizmalar ve aynı zamanda zorunlu anaerobların da üremesini destekleyecek şekilde tasarlanmıştır. Aerobik kan kültürü şişeleri genellikle şişenin üst boşluğunda belirli mikroorganizmaların üremesini desteklemek için belirli miktarlarda karbondioksit ilave edilmiş uygun ortam içerir. Anaerobik kan kültürü şişelerinin üst boşluğunda genellikle karbondioksit ve nitrojen bulunurken, oksijen bulunmaz. Son yıllarda zorunlu anaerobların neden olduğu bakteriyemilerin oranındaki düşüşle (24, 33, 34, 35), bazı araştırmacılar kültür setindeki anaerob kan kültür şişelerinin rutin kullanımını gereksiz bulmuşlardır (35, 36, 37, 38). Bunun yerine, daha sık görülen aerobik ve fakültatif organizma ve mayaların saptanmasını arttırmak ve yetişkinlerden en az 20 ml kan ile kan kültürü yapılmasını sağlamak için ikinci bir aerob şişesinin kullanımı önerilmektedir. Anaerobik şişe, sadece anaerobik bakteriyemiler için yüksek risk altında olan hastalarda seçici olarak kullanılabilir. Ancak son zamanlarda yapılan bir çalışmada; aktif kömür tozu ile hazırlanmış besiyerlerinin, iki aerobik şişe kullanılmasına kıyasla bir aerobik ve bir anaerobik çift şişeye yapılan ekimin mikroorganizmaların saptanmasında artışa neden olduğu bulunmuştur (39). Bu araştırmanın en önemli dezavantajı, çalışma populasyonunda az miktarda fungemi saptanmasıdır. Sadece, aerobik şişelerin ya da daha geleneksel olan aerobik ve anaerobik şişe çiftinin kullanımı hala tartışmalı olarak devam etmektedir (24, 40).

2.2.7. Şişenin Çalkalanması

Birçok araştırma şişelerin çalkalanmasının üremeyi arttırdığını ve aerobik şişelerden pozitif kan kültürü tanısını hızlandığını kanıtlamıştır (41, 42, 43). Ticari olarak bulunabilen bütün SMKKS'leri aerobik şişeleri ve aynı zamanda çoğu anaerobik şişeleri de çalkalamaktadırlar.

2.2.8. Pasajlar

Genellikle geleneksel manuel kan kültürü işlemi, bir gecelik inkübasyon sonunda ve kültür negatif olduğu durumda inkübasyon dönemi sonunda, Gram boyaması ve aerobik kültür şişelerinin kör pasajını gerektirir. Manuel sistemlerdeki anaerobik kültür şişelerinin ve cihazlı sistemlerdeki bütün şişelerin kör pasajı gereksizdir (24).

2.2.9. İnkübasyon Süresi

Rutin durumlarda manuel kan kültürlerinin 7 günden fazla inkübe edilmesine gerek yoktur. Cihazlı kan kültürü sistemleri ile ilgili çalışmalar, birçok patojenin saptanmasında 5 günlük inkübasyonun yeterli olduğunu göstermektedir (17, 44, 45).

2.3. KAN KÜLTÜRLERİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

2.3.1. Kontaminasyon

Kan kültürünün pozitif çıkmasının kontaminasyondan ziyade enfeksiyonun bir delili olması, kan alınırken uygulanan cilt antisepsisinin etkinliğine ya da kan vücuda yerleştirilen bir aletten alınıyorsa, bu aletin antisepsisinin etkinliğine bağlıdır. Katetere bağlı bakteriyemilerin en önemli etyolojik ajanı ve aynı zamanda en sık kan kültürü kontaminantı olan koagülaz negatif stafilokokların (KNS) kan kültürü kontaminantı olarak üremesi, sadece klinisyenlerin kafasını karıştırmakla kalmaz, aynı zamanda büyük masrafa neden olur (46). Kontaminasyon oranının < % 3 olması, iyi kan kültürü alınması için referans değer olarak belirtilmektedir (3).

Bugüne kadar deri temizliği için geleneksel olarak %70 alkol uygulamasını takiben ya povidon iyodin ya da %2'lik iyot tendürü önerilmiştir. Povidon iyodin, maksimum

antiseptik sonucu sağlaması bakımından 1,5-2 dakika temas süresi gerektirirken (40), iyot çözeltisi 0.5 dakika gerektirir (47). Yapılan bazı çalışmalarda iyodofor yerine iyot çözeltisi kullanımı ile daha düşük kontaminasyon oranları tespit edilmiştir (48, 49). Son zamanlarda, damardan kan alınmadan önce klorheksidin kullanılması önerilmektedir. Bir çalışma, bu madde kullanımı ile iyodofordan daha düşük kontaminasyon oranı belirlemiştir (50). Bir başka çalışmada ise klorheksidin tendürü ile iyot tendürü karşılaştırılmış ve eşit kontaminasyon oranları tespit edildiği belirtilmiştir (51).

Kontaminasyonu azaltmak için, deri temizliğinde kullanılan maddeye bakılmaksızın, titiz bakım ve aseptik tekniklerin kullanılması gereklidir. Ayrıca, kan alımı için kurulmuş ekipler tarafından alınan kan kültürlerinin kontamine olma olasılığının daha düşük olduğu belirtilmektedir (52).

2.3.2. Kan Örneklerinin Sayısı

Kültür için alınan 20 ml kanın kullanıldığı manuel kan kültürü sistemleri ile yapılan çalışmalar, yetişkinlerde iki ya da üç kan örneği kültürü ile hemen hemen bütün ($\geq 99\%$) KDE'nin saptanacağına dair iyi bir kanıt oluşturmaktadır (53, 54). Bu sebeple, tek kan örneği ile yapılan kan kültürünün mümkün olduğunca önüne geçilmelidir. Tek örnekle yapılan kan kültürü, bazı enfeksiyonların teşhisi için yetersiz olacaktır. Ayrıca, 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 sonucun yorumlanması zorlaşmaktadır (3).

2.3.3. Kan Kültürü Alınma Zamanı

Sistematik olarak kültür için kan alınma zamanını konu alan çalışma sayısı azdır. Bakteriyemiler üşüme, titreme ile ilişkilendirilmiş olsa da (55) bu fizyolojik olay genellikle ateşten önce oluşmaktadır. Bazı araştırmacılar, kültür için kan alımının birbirini izleyen aralıklarla yapılmasını önermişlerdir (56). Ancak, Li ve ark.'nın (57) yaptıkları bir çalışmada, 24 saatlik zaman diliminde ya da belirli bir aralıkta alınan kan örneklerinde mikroorganizma üreme açısından bir fark olmadığını göstermişlerdir.

Klinisyen ya da mikrobiyoloji uzmanına, hastanın klinik durumu ve şüphelenilen tanı rehber olmalıdır. Sepsisteki ve stabil olmayan bir hastada, tedavinin başlayabilmesi için

kan kültürü örneğinin derhal alınması gerekir. Buna karşın, stabil bir hastada ise subakut enfektif endokarditten şüphelenilirse, aralıklı olarak birden çok kan örneği alınabilir (3).

2.3.4. Pozitif Kan Kültürlerinin Yorumlanması

Birçok hastanede, alınan kan kültürü örneklerinin %8 ile %14'ü pozitif bulunmaktadır. Bu pozitif kan kültürlerindeki izolatların yarısı ile üçte ikisi bakteriyemi veya fungemi nedeni, geri kalanı ise kontaminant veya klinik anlamı bilinmeyen izolatlar şeklindedir. Bu yüzden, pozitif kan kültürlerinin yanlış yorumlanması hasta ve kuruluş için pahalıya mal olabilmektedir (46). Kullanışlı birkaç kriter yorumlamada yardımcı olabilir. Bunlar; mikroorganizmanın tam olarak tanımlanması, aynı mikroorganizma için birden fazla kan kültürü pozitifliği, kanda bulunan aynı mikroorganizmanın, normalde steril olan başka bir bölgede üremesi gibidir (3).

Kandan izole edildiklerinde her zaman enfeksiyonu temsil eden mikroorganizmalar; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Enterobacteriaceae*'nın diğer aile üyeleri, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Candida albicans*'dır. Kandan izole edildiklerinde nadir olarak gerçek bakteriyemi yapanlar; *Corynebacterium* türleri, *Bacillus* türleri ve *Propionibacterium* türleridir. KNS'ler, klinik anlamlarını yorumlamak, her yerde görülmeleri ve kan izolatlarının %12 ile %15'inin kontaminant değil patojen sayılması nedeniyle, belki de en sorunlu bakteri grubudur. Kan kültür setindeki pozitif kültür şişelerinin sayısı, KNS'lerin klinik anlamına karar vermek için güvenilir bir kriter değildir (3).

Yorumlama yöntemlerinden biri de, elde edilen setlerin sayısının pozitif çıkan kültür setleriyle karşılaştırılmasıdır. Eğer aynı mikroorganizma(lar) için bütün veya çoğu setler pozitif ise, klinik anlam açık olarak bellidir. Aslında en son değerlendirmeyi klinisyenin yapması gerekirse de, mikrobiyolog da kan izolatlarının klinik anlamı açısından önemli yol gösterme yapabilmektedir (3).

2.4. ATEŞ

Genelde ateşin tanımı şu şekilde yapılmaktadır: "Ateş, çok hücreli organizmaların, kendileri için patojen ya da yabancı, canlı ya da cansız maddelerin işgallerine karşı geliştirdikleri, kısmen savunmayla ilişkili yanıtlarının bir parçası olarak, sıklıkla ancak zorunlu olmaksızın, vücutlarının öz ısılarının yükselmesi durumudur" (58). Erişkinlerdeki

normal vücut ısısına ilişkin olarak 1935 ile 1999 yılları arasında yapılmış çalışmalarını irdeleyen bir gözden geçirmede, oral ısının 33.2-38.2°C, rektal ısının 34.4-37.8°C, timpanik ısının 35.4-37.8°C ve koltuk altı ısısının da 35.5-37.0°C'ler arasında değiştiği saptanmıştır (59). Vücut ısısı normalde günlük değişiklikler gösterir ve oral ısı sabah erken saatlerde (04.00-06.00 arasında) 37.2°C, akşama doğru (16.00-18.00 arasında) 37.7°C'ye yükselerek değişir. Ancak ısı ölçüm yerine göre en yüksek ve en düşük değerlere ulaşılma zamanlarının farklı olabileceği unutulmamalıdır. Normal 24 saatlik ısı düzenlemesi (sirkadyen ısı ritmi), ortalama olarak sabah en düşük, öğleden sonra en yüksek sınırları arasında 0.5°C'lik bir fark gösterirken, bu fark, kimi bireylerde 1.0°C'yi bulabilir (60, 61). Ateşin gelişimiyle ilgili klasik anlayış, periferdeki mononükleer fagositlerden, ekzojen pirojenlerin etkisiyle üretilen pirojenik sitokinlerin anterior hipotalamusun preoptik alanını uyarmaları sonucunda, PGE2 aracılığıyla vücut ısısının yükseltildiğine ilişkindir.

Ateş oluşumuna neden olan maddeler pirojen adı ile anılırlar ve ekzojen ya da endojen olabilirler. Ekzojen pirojenler, mikroorganizmalar, onların ürünleri ya da toksinleri olabileceği gibi kimi mikrop dışı (antijenler, lektinler, ilaçlar) veya doğrudan konaktan türeyen (ürat kristalleri, inflamatuvar safra asitleri gibi) maddeler de olabilirler. Ekzojen pirojenler, fizikokimyasal yapılarından bağımsız bir şekilde, konak hücrelerinden (başlıca monosit/makrofajlardan) endojen pirojenlerin (pirojenik sitokinlerin) salınmalarına yol açarak, ateş patogeneğinde yer almaktadırlar. Ekzojen pirojenlere klasik örnek Gram negatif bakterilerin endotoksinleridir. Gram pozitif bakteriler de güçlü ekzojen pirojenler üretirler ki bunlar lipoteikoik asit, peptidoglikan, çeşitli ekzotoksin ve enterotoksinlerdir. *Candida albicans* gibi patojen mantarların mannan ve glukan komponentleri ile çift sarmallı RNA gibi virüslere ait kimi komponentler de ekzojen pirojen özelliğindedirler. Endojen pirojenler ise, başlıca monosit/makrofajlardan olmak üzere konağın çeşitli hücreleri tarafından salınan, molekül ağırlıkları 10-30 kDa arasında değişen ve yapısal olmayan proteinler olan sitokinlerdir. Günümüzde, intrinsek olarak pirojenik özelliği bulunduğu saptanmış olan sitokinler şunlardır: IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , TNF- β , IL-6 ve *ciliary neurotrophic factor* (CNTF). Bu sitokinler dakikalar içerisinde olmak üzere hızlı bir şekilde ateşi başlatırlar. IFN- α ve bir dereceye kadar da IFN- γ insanlarda ve tavşanlarda ateş oluşturmaktaysalar da bu ateş injeksiyondan saatler sonra ortaya çıktığından interferonların gerçekten de intrinsek olarak pirojenik olup olmadıkları tartışmalıdır. Yine, ateş yanıtında TNF'nin rolü, IL-6'ya benzer şekilde, bu molekülün hem pirojenik hem de antipiretik etkilerinin gösterilmiş olması nedeniyle tartışmalıdır. Ateşin başlatılmasında sitokinler dışındaki kimi mediyatörlerin de rolü olabileceği yolunda veriler elde

edilmektedir. Bunlar arasında dolaşan PGE2, komplemanın anafilatoksik komponenti C5a ve trombosit aktive edici faktör (platelet-activating factor, PAF) üzerlerinde en çok durulanlardır (62).

Ateşle seyreden hastalığı olan hastalarda başlangıçta bir üşüme duygusu vardır, bunu vücut ısısını yükseltecek olan titreme dönemi izler. Vücut ısısı, yeni ısı ayarına doğru yükseldikçe hasta bir ısınmışlık duygusu hisseder. Yeni ısı ayarına ulaşıldığında, hipotalamik refleksler periferde vazodilatasyon ve terlemeyi başlatırlar. Ateş döneminin sonlanması iki şekilde ortaya çıkar. Ya vücut ısısı yüksek giderken 12 - 24 saat içerisinde bol terleme ile 37.0°C'nin altına düşer (kriz şeklinde düşüş) ya da yavaş azalmalarla yaklaşık bir haftada olağan vücut ısısı düzeylerine düşer (lisis şeklinde düşüş). Lizisle başlayan ısı düşüşü başlangıçta remittan, sonraları intermittan özelliktedir. Enfeksiyon hastalıklarının seyri sırasında devamlı ateş, aralıklı ateş, bacaklı ateş, tekrarlayan ateş, dalgalı ateş, bifazik ateş, subfebril ateş gibi çok çeşitli ateş şekilleri görülmekle birlikte bazı hastaların ateşsiz (afebril) kaldığı da unutulmamalıdır. Bu hastalar immun yetmezlikli, alkolik, kronik böbrek yetmezliği olan ya da yaşlı kişilerdir (62).

Yukarıda anlatılan tüm bu bilgiler doğrultusunda kan kültürü ile ilgili hemen hemen her konu araştırılmış, ancak yine de pozitiflik oranı % 8-14 (3) arasında değişmektedir. Bu oran da kan kültürü gibi çok önemli bir tanı aracında maalesef çok düşük bir orandır. Bizim çalışmamızın temel amacı da bu pozitiflik oranını arttırabilmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta grubu: Araştırmaya, Haziran 2010 - Mayıs 2011 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi'nde (AYBÜ) yatan 45 hasta dahil edilmiştir.

Örneklerin toplanması: Belirtilen tarihler arasında hastanemizde yatarak tedavi gören ve enfeksiyon belirtisi gösteren 45 hastanın, 100 KDE atağında toplam 300 kan kültürü örneği alınmıştır. Her hastadan, ilk örnek klinik hekimin uygun gördüğü zamanda (0. saat örneği), ikinci örnek ilk örnekten 2 saat sonra (2. saat örneği) ve üçüncü örnek de ilk örnekten 4 saat sonra (4. saat örneği) ve her biri 5-10 ml olmak üzere toplam 3 kan kültürü örneği alınmıştır. Her örnek alımında hastaların ateşleri ölçülerek kaydedilmiştir. Hospitalizasyon süreleri boyunca birden çok KDE atağı geçiren hastalardan en az 72 saat ara ile alınan kan kültürleri ise yeni bir bakteriyemik epizot olarak değerlendirilmiştir.

Ateşin değerlendirilmesi: Ateşle pozitiflik oranları arasındaki ilişkinin değerlendirilebilmesi için hastalar, ateşi olmayanlar (üç örnek alımında ateşi olmayan hastalar), ateşi yükselişte olanlar (0. saatte ölçülen ateş, 2. saat ve 4. saatteki ateş ölçümlerinden düşük ise) ve ateşi düşüşte olanlar (0. saatte ölçülen ateş diğer ölçümlerden yüksek ise) olmak üzere üç grupta toplanmıştır.

Kan kültürü: Alınan kan kültürü örnekleri, Tıbbi Mikrobiyoloji AD Bakteriyoloji Laboratuvarında BACTEC / 9120 (Becton Dickinson, Maryland, USA) otomatize kan kültür sisteminde (OKKS) bir hafta süreyle inkübe edilmiştir. Üreme sinyali veren tüm örneklerin %5 koyun kanlı agar (SALUBRİS, İstanbul) ve Eosin Metilen Blue agar (SALUBRİS, İstanbul) besiyerlerine subkültürleri yapılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda üreyen bakterilerin tanımlanmasında klasik bakteriyolojik yöntemler ve yarı otomatize biyokimyasal identifikasyon kitleri (BBL Crystal GP; E/NF, Becton Dickinson, USA) kullanılmıştır. *In vitro* duyarlılık testleri, Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda yapılarak değerlendirilmiştir (63).

Hastalardan alınan kan kültürü örneklerinin sadece birinde KNS üremesi durumunda ve 24 saatten daha geç üreme sinyali veren örnekler kontaminasyon olarak değerlendirilmiştir.

İstatistiksel değerlendirme: Çalışmada elde edilen sonuçların analizi, SPSS 16.0 istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Hastalardan alınan ilk kan kültürlerinin (0. saat) pozitiflik oranları, 0. ve 2. saat örneklerinin ve 0. saat, 2. saat ve 4. saat

örneklerinin toplam pozitiflik oranları ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen oranların arasındaki artışın değerlendirilmesinde *ki-kare* testi kullanılmıştır. Ayrıca pozitiflik oranının; kültür sayısı, kan alma zamanı ve ateşle ilişkisi de incelenmiştir.

BULGULAR

Haziran 2010 – Mayıs 2011 tarihleri arasında AYBÜ’de yatan 45 hastada görülen 100 KDE atağında 300 kan kültürü örneği alınmış olup 132’sinde (%44) üreme saptanmıştır. Ayrıca, 300 örneğin 23’ü (%7,6), üreme sinyali 24 saatten daha geç saptandığı için ve cilt florasına ait bakteriler olmaları nedeniyle kontaminasyon olarak değerlendirilmiştir.

Örnek alma zamanına göre pozitiflik oranlarını değerlendirdiğimizde: 0. saatte alınan örneklerde %39 oranında üreme saptanırken, bu oran 2. saatte %49, 4. saatte ise %44 olarak saptanmıştır (Tablo-1). İki kan kültürü örneği ile (0. ve 2. saat) toplam pozitiflik oranının (herhangi bir örnekte üreme olması) %55’e, üç kan kültürü örneği ile (0. 2. ve 4. saat) pozitiflik oranının (herhangi bir örnekte üreme olması) %62’ye çıktığı gözlemlenmiştir (Tablo-2).

Tablo-1. Örnek alınma zamanına göre pozitiflik oranları

	Üreme yok	Üreme var
0. saat	61 (%61)	39 (%39)
2. saat	51 (%51)	49 (%49)
4. saat	56 (%56)	44 (%44)
TOPLAM	168 (%56)	132 (%44)

Tablo-2. Pozitiflik oranlarının kümülatif artışı

	Üreme yok	Üreme var
0. saat	61 (%61)	39 (%39)
0. + 2. saat	45 (%45)	55 (%55)
0. + 2. + 4. saat	38 (%38)	62 (%62)

p=0,001

Elde edilen sonuçları, hastanemizde rutin olarak uygulanan yöntemle karşılaştırdığımızda, aynı hasta grubunda bir saat ara ile iki kan kültürü örneği alınan 100 KDE atağının 34'ü pozitif olarak değerlendirilmiştir. Bu 34 pozitif atağın biri polimikrobiyal olmak üzere toplam 35 etken tespit edilmiştir. Buna karşın, iki saat ara ile üç kan kültürü yönteminde 0. ve 2. saatlerde pozitif KDE atağı sayısının 55'e ve saptanan etken sayısının 63'e (8 KDE atağında polimikrobiyal üreme); 0., 2. ve 4. saatlerde pozitif KDE atak sayısının 62'ye, saptanan etken sayısının da 73'e (11 KDE atağında polimikrobiyal üreme) çıktığı gözlemlenmiştir (Tablo-3).

Tablo-3. 0., 2. ve 4. saatlerde alınan örneklerde izole edilen etkenler

Mikroorganizma	Üç kan kültürü			
	Etken sayısı	0. saat (%)	0.+2. saat (%)	0.+2.+4. saat (%)
<i>Candida spp.</i>	25	16 (64)	22 (88)	25 (100)
<i>A. baumannii</i>	17	8 (47)	13 (76)	17 (100)
KNS	9	3 (33)	9 (100)	9 (100)
<i>Enterococcus spp.</i>	11	4 (36)	9 (82)	11 (100)
<i>P. aeruginosa</i>	6	6 (100)	6 (100)	6 (100)
<i>K. pneumonia</i>	4	2 (50)	3 (75)	4 (100)
<i>P. stuartii</i>	1	-	1 (100)	1 (100)
Toplam	73	39 (53)	63 (86)	73 (100)

Çalışmamızda 45 hastanın 23'ünde tek bir KDE atağı olması nedeniyle 0., 2. ve 4. saatler olmak üzere sadece bir kere örnek alınmıştır, 22 hastada ise birden fazla KDE atağı düşünüldüğü için daha fazla sayıda örnek alınmıştır. Uzun süreli hospitalizasyon nedeniyle 9X3 defa olmak üzere, en fazla sayıda kan kültürü örneği alınan bir hastanın kültür sonuçları ayrıca değerlendirilmiştir (Tablo-4). Söz konusu hastanın üçüncü KDE atağında alınan üç kan kültürü örneğinin sadece 0. saatte *Candida spp.* saptanırken, beşinci KDE

atağında alınan üç kan kültüründe, altıncı KDE atağında da 2. ve 4. saat alınan örneklerinde de *Candida* spp.'nin ürediği gözlemlenmiştir.

Tablo – 4. En fazla sayıda örnek alınan hastanın üreme sonuçları

Örnek No	0. saat Üreme/Etken	2. saat Üreme/Etken	4. saat Üreme/Etken
1-	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
2-	Üreme yok	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>
3-	<i>Candida</i> spp.	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>
4-	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>
5-	<i>Candida</i> spp.	<i>Candida</i> spp.	<i>Candida</i> spp.
6-	Üreme yok	<i>Candida</i> spp.	<i>Candida</i> spp.
7-	Üreme yok	KNS	KNS
8-	<i>A. baumannii</i>	<i>Candida</i> spp.	<i>A. baumannii</i>
9-	<i>K. pneumonia</i>	Üreme yok	Üreme yok

Ateşle pozitiflik oranları arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, ateşin yükseliş döneminde olduğu 30 hastadan alınan 90 kan kültürü örneğinin 45'inde (%50) üreme saptanırken, ateşin düşüş döneminde olduğu 43 hastadan alınan 129 örneğin 69'unda (%53,5) pozitif üreme sinyali saptanmıştır. Ateşi olmayan 27 hastadan alınan 81 kan kültürü örneğinin 18'inde (%22,2) üreme tespit edilmiştir (Tablo-5).

Tablo-5 Ateş dönemlerine göre pozitiflik oranları

Hasta grupları	Üreme var	Üreme yok	Toplam
Ateş yok	18 (%22,2)	63 (%77,8)	81 (%100)
Ateş yükselişte	45 (%50,0)	45 (%50,0)	90 (%100)
Ateş düşüşte	69 (%53,5)	60 (%46,5)	129 (%100)
Toplam	132 (%44)	168 (%56)	300 (%100)

Çalışma kapsamında değerlendirilen KDE ataklarının 62'sinde toplam 73 mikroorganizma saptanmış olup, üreyen mikroorganizmaların %34,2'sini *Candida* spp., %38,4'ünü Gram negatif basillerin, %27,4'ünü Gram pozitif bakterilerin oluşturduğu gözlemlenmiştir. En sık izole edilen etken *Candida* spp. olup, onu *Acinetobacter baumannii*, KNS, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumonia* ve *Providencia stuarti* izlemiştir (Tablo-6).

Tablo-6. İzole edile mikroorganizmaların dağılımı

Etken	Sayı (%)
<i>Candida</i> spp.	25 (%34,2)
<i>A. baumannii</i>	17 (%23,2)
KNS	9 (%12,3)
<i>E. faecium</i>	7 (%9,5)
<i>P. aeruginosa</i>	6 (%8,2)
<i>E. faecalis</i>	4 (%5,4)
<i>K. pneumonia</i>	4 (%5,4)
<i>P. stuartii</i>	1 (%1,3)
Toplam	73 (%100)

Çalışma kapsamında izole edile KNS'lerin tümü oksasiline dirençli olarak saptanırken, glikopeptid direncine rastlanmamıştır. Enterokoklarda da glikopeptid direnci saptanmadı ancak 11 izolatın 8'inde (%72,6) penisilin direnci ve 7'sinde (%63,6) yüksek düzey aminoglikozid direnci saptandı. Non fermentatif gram negatif bakteriler için kolistin, seftazidim, netilmisin ve amikasin, enterik gram negatif bakteriler için imipenem ve amikasinin en etkili antibiyotikler olduğu saptanmıştır. İzole edilen gram pozitif ve gram negatif bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları Tablo-7 ve 8'de verilmiştir.

Tablo-7. Gram negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları

Antibiyotik	<i>A.baumannii</i> n=17		<i>K.pneumonia</i> n=4		<i>P.aeruginosa</i> n=6	
	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
Aztreonam	0	17	0	4	4	2
Seftazidim	0	17	0	4	6	0
Sefepim	0	17	0	4	4	2
Seftriakson	0	17	0	4	-	-
TZP*	0	17	0	4	4	2
İmipenem	0	17	4	0	5	1
Meropenem	0	17	1	3	5	1
Kolistin	17	0	-	-	6	0
Gentamisin	1	16	1	3	4	2
Amikasin	2	15	4	0	4	2
Netilmisin	7	10	0	4	4	2
Siprofloksasin	0	17	0	4	4	2
SXT**	0	17	1	3	-	-

* TZP: Piperasilin-tazobaktam, ** SXT: Trimetoprim-sulfometaksazol

Tablo-8. Gram pozitif bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları

Antibiyotikler	KNS n=9		<i>Enterococcus spp.</i> n=11	
	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
P/AMP*	0	9	3	8
Oksasilin	0	9	-	-
Sefoksitin	0	9	-	-
SXT**	4	5	-	-
Tetrasiklin	-	-	2	9
Klindamisin	4	5	1	10
Eritromisin	0	9	0	11
Gentamisin	4	5	4	7***
Teikoplanin	9	0	11	0
Linezolid	9	0	9	2
Vankomisin	9	0	11	0

*P/AMP: Penisilin/Ampisilin, ** SXT: Trimetoprim-sulfometaksazol , ***Yüksek düzey aminoglikozid direnci

TARTIŞMA

Hastane enfeksiyonları bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu olma özelliğini sürdürmektedir. Hastane enfeksiyonları, morbidite ve mortalitenin yanında, hastanın hastanede kalış süresini uzatmakta ve tedavi maliyetlerini arttırmaktadır (64, 65).

Hastanelerde gelişen enfeksiyonlar içinde kan dolaşımı enfeksiyonları (KDE) en sık görülen enfeksiyon türlerinden biridir. Özellikle invaziv girişimlerin daha çok uygulandığı yoğun bakım birimlerinde birinci sırada yer almaktadırlar (66, 67).

Kan dolaşımı enfeksiyonları, hastanın kliniği ve mikroorganizma türüne göre %20-60 oranında mortal seyreden enfeksiyonlardır. Bu nedenle kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmaların mümkün olduğunca kısa sürede belirlenmesi ve duyarlılık testlerinin yapılması doğru tedavinin verilmesinde ve mortalitenin azaltılmasında büyük rol oynamaktadır (1, 2).

Günümüzde KDE'na sahip hastaların değerlendirilmesinde kan kültürü hala en önemli tanı araçlarından biri olma özelliğini korumaktadır. Son 30 yılda, kan kültürü sistemlerinde birçok yenilik ve gelişme olmuştur. Konvansiyonel kan kültürü yöntemlerine kıyasla mikroorganizmaların tespitinde modern, otomatize ve sürekli monitörize kültür sistemleri kullanıma girmiştir. Ancak kullanıma giren yeni otomatize kültür tekniklerine rağmen hastalardan alınan kan kültürlerinin büyük bir kısmında bakteri üretilmemektedir (3). Ayrıca, mikrobiyolojinin birçok alanında olduğu gibi KDE tanısında da kısa sürede sonuç veren moleküler tanı kitleri konvansiyonel kültür yöntemlerine alternatif olarak kullanılmaya çalışılmaktadır (68, 69). Ancak yüksek maliyetleri nedeniyle, rutin uygulamada altın standart dediğimiz “kültür”ün önüne geçememişlerdir. Bu nedenle kan kültürü hala pratik ve maliyeti düşük yöntem olarak önemini korumaktadır.

Ülkemiz verilerini de kapsayan, ESCMID (the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) önderliğinde, Avrupa hastane enfeksiyonları çalışma grubu (ESGNI) tarafından yapılan çok merkezli bir çalışmada, kan kültürlerinde pozitiflik oranlarının Avrupa ülkelerinde %13.4, Avrupa ülkesi olmayanlarda ise % 19.1 olarak bildirilmiştir (70). Türkiye’de iki farklı merkezde yapılan çalışmalarda ise pozitiflik oranlarının %12.4 ile 16.7 arasında olduğu belirtilmiştir (1). Bu çalışma kapsamında ise kültür pozitiflik oranı %44 olarak saptanmış olup, bu yüksek oran örnek alınan hastaların tümünün YBÜ’de yatan hastaların olmasına bağlanmıştır.

Günümüzde, KDE tanısı için alınan kan kültürlerinin değerlendirilmesinde sorunlar yaşanmaktadır. Kan kültürü sonuçlarını etkileyen birçok faktör vardır. Örneğin alınma zamanı, alınan kan kültürünün hacmi, kültür sayısı, kullanılan besiyeri ve cilt temizliğinin uygun yapılması kültür sonuçlarını büyük ölçüde etkileyebilmektedir (3, 51). Tüm bu faktörlerle ilgili çeşitli araştırmalar yapılmış olup, kan kültürlerinin yorumlanmasına yönelik belirli kriterler ortaya konmuş olsada hala standardizasyon eksikliği yaşanmaktadır (71).

1975 yılında J.A. Washington (53) yaptığı bir çalışmada, bakteriyemik atakların %80'i tek kan kültürü örneği ile, %88'i iki örnekle ve %99'u üç örnekle saptadığını bildirmiştir.

Weinstein ve ark. (54) 1983 yılında konvansiyonel manuel kan kültür yöntemi ile bakteriyemik atakların %91,5'ini tek kan kültürü ile, %99,3'ü de iki kan kültürü ile tespit edebilmişlerdir.

2004 yılında BACTEC 9240 ile Cockerill ve ark.'nın (17) yaptıkları çalışmada ise 181 KDE atağı incelenmiştir ve atakların %67,4'ü ilk kültürle, %81,8'i ilk iki kültürle, %95,6'sı üç kan kültürüyle ve tüm ataklar dört kan kültürü ile saptanabilmiştir.

Lee ve ark. (72) 2007 yılında, KDE tanısında kültür sayısını belirlemeye yönelik yaptıkları bir çalışmada, monomikrobiyal atakların %73,1'ini birinci örnekle, %89,7'sini iki örnekle, %98,2'sini üç örnekle ve %99,8'ini de dört örnekle saptayabildiklerini bildirmişlerdir. Polimikrobiyal üremeleri dahil ettiklerinde ise etkenlerin %81'i tek kan kültürü ile, %93,1'i iki kan kültürü ile ve pozitiflerin tamamı üç kan kültürü alınarak saptandığını bildirilmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları ışığında yazarlar, erişkin hastalarda 24 saat içinde iki kan kültürü örneği ile %90 oranında kan dolaşımı enfeksiyonu tanısı koyabilmenin mümkün olabileceğini, ancak bu oranın %99.0 ve üzerine çıkılabilmesi için hastalardan en az dört kan kültürünün alınmasının gerekli olduğunu vurgulamışlardır.

Bizim çalışmamızın sonuçlarını, incelenen literatür eşliğinde değerlendirdiğimizde, 73 etkenin 39'u (%53,4) alınan ilk kültürle, 63'ü (%86,3) ilk iki kültürle ve tamamı da üç kültürle saptanmıştır (Tablo-3).

Tüm bu çalışmaların sonuçlarına baktığımızda, 1975 (53) ve 1983 (54) yıllarında yapılan çalışmalarda KDE ataklarının tamamının saptanmasında iki veya üç kan kültürü örneği gerekirken, 2004 (17) ve 2007 (72) yıllarında yapılan çalışmalarda ise tüm teknolojik gelişmelere rağmen, KDE'ni saptamak için daha fazla sayıda kan kültürü alınması gerekiyor gibi gözükmektedir. Ancak farklı yıllarda ve farklı yöntemlerle yapılan bu çalışmalar arasında çelişki var gibi gözükmeyle birlikte, asıl sorun bu çalışmaların

birbiriyle kıyaslanmasıdır. Çünkü söz konusu araştırmaların hepsinde gerçek pozitiflik oranları ve etken saptama oranları aslında birbirinden farklıdır ve her bir araştırmacı kendi pozitif saptadığı kan kültürlerini, dolayısıyla KDE'nı %100 olarak kabul etmektedir. Her bir araştırmacının %100 olarak belirlediği değer aslında dünyadaki kan kültürü pozitiflik oranı olan %8-14 arasında ya da buna yakın bir değeri ifade etmektedir. Bu nedenle, tüm bu çalışmalarda eğer pozitiflik oranları (pozitif saptanan kan kültürü/alınan kan kültürü) ya da etken saptama oranları (etken bakteri sayısı / KDE düşünülen hasta sayısı) aynı şekilde hesaplanmış olsaydı, bu araştırmaları karşılaştırmanın mümkün olabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada, 100 KDE atağının alınan ilk kan kültürlerinde (0. saat) pozitiflik oranı %39 olmasının nedenini çalışmaya dahil edilen hastaların AYBÜ de yatan hastaların oluşturulmasına bağlanmıştır. Daha iyi karşılaştırma imkanı sağlayabilmek için, aynı üniteden aynı zaman aralığında ve aynı hastalardan bir saat ara ile alınan iki kan kültürü sonuçları ile karşılaştırdığımızda, rutin yöntemle kan kültürü alınmış KDE ataklarındaki pozitiflik oranının %34 olduğu görülmüştür. Bu çalışmada 0.saatte alınmış kan kültürlerindeki pozitiflik oranı (%39) klasik yöntemle örnek alınmış iki kan kültürü ile elde edilen orana (%34) yakın olmakla birlikte, ikişer saat aralarla toplam 3 kan kültürü alarak, 0. ve 2. saatlerde toplam pozitiflik oranının %55'e ve 0., 2. ve 4. saatlerdeki toplam oranın ise %62'ye kadar çıktığı saptanmıştır. İzole edilen etken sayısı açısından değerlendirdiğimizde ise, 0. ve 2. saatte örnek alınan 100 KDE atağında 63 etken, 0., 2. ve 4. saat örneklerinin tamamında ise 73 etken tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı çıkmış olmakla birlikte, hastalara ait klinik verilerin eksik olması araştırmamızın eksik yönünü oluşturmaktadır. Bu nedenle hastaların klinik bilgilerinin de içeren daha kapsamlı çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı düşünülmüştür.

Dolaşım sistemi infeksiyonlarının tanısı için alınan kan kültürlerinin değerlendirilmesinde yaşanan en önemli sorunlardan biri kontaminan bakterilerin varlığıdır. İdeal koşullarda kontaminasyon oranının erişkin hastalar için %3'ün altında olması beklenmektedir (3). Çalışmamızda bu oran %7.6 olarak belirlenmiş olup, ülkemizde yapılan çalışmalarda kontaminasyon oranları %5 ile %10.5 arasında bildirilmektedir (1, 73, 74). Hastanemizde saptanan yüksek kontaminasyon oranları örnek alınırken deri temizliğinin iyi yapılmasını ve kan kültürü alma tekniklerine uyumunun artırılması gerekliliğini göstermektedir.

Günümüzde kan kültürü alma endikasyonları çeşitlidir, ancak ateş kan kültürü alınmasının en sık nedenidir. Bununla birlikte lokal enfeksiyon, yenidoğan, yaşlı hasta, böbrek yetmezliği, kortikosteroid ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaç kullanımı, immün

sistemi bozukluğu gibi durumlarda ateş olmaksızın kan kültürü alınması önerilmektedir (73).

Riedel ve ark. (2), pozitif saptanan kan kültürlerinde örneğin alındığı zamanı kriter olarak, ateşle pozitif kan kültürü arasındaki ilişkiyi değerlendirdikleri bir çalışmada, örnek alımından 24 saat öncesindeki dönemde en yüksek ateş değerini, 24 saat sonrasındaki dönemde en yüksek ateş değerini ve bir de kültürün alındığı andaki ateş değerini incelemiştir. Araştırmacılar, ateşin zirve yaptığı dönemin öncesinde, sonrasında ya da tam zirve yaptığı dönemde kan kültürlerinin pozitif olabileceğini belirterek, ateşle pozitiflik arasında bir ilişki tespit edemediklerini vurgulamışlardır.

Bizim çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre ise ateşsiz grubu oluşturan 27 KDE atağında alınan 81 kan örneğinde % 22,2 oranında üreme olmuştur. Dikkat çekici bir başka nokta ise, ideal örnek alma zamanına en yakın grup olan ateşin yükselme döneminde olduğu 30 KDE atağında alınan 90 örneğin % 50'sinde üreme saptanırken, ateşin düşüş döneminde olduğu 43 KDE atağında alınan 129 örneğin % 53,5'inde üreme olmasıdır. Bu sonuçların ışığında, ateş kan kültürü için örnek alımında temel göstergelerden biri olmakla birlikte, ateşin düşüş döneminde ve ateşsiz dönemlerde de kan kültürü alınmasının yararlı olabileceği düşünülmüştür. Ancak bu bulguların daha çok hasta ile yapılan ileri çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Son 30 yıl içinde, özellikle yoğun bakım tedavisi gerektiren hastalar arasında KDE etyolojisi ve epidemiyolojisinde bazı değişiklikler meydana gelmiştir. 1970'li yıllarda Gram negatifler daha sık izole edilirlerken, 1980 ve 1990'larda Gram pozitif koklar ön plana çıkmaya başlamıştır (75). Hastanemizde Ocak 2005 - Mayıs 2006 tarihleri arasında, kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmaları ve antibiyotiklere duyarlılıklarını belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada KNS'ler en sık izole edilen etkenler olarak bildirilirken, *Candida spp.* izole edilen etkenlerin %8.3'nü oluşturmuştur. Aynı çalışmada izole edilen etkenlerin %50.7'sini Gram negatif basillerin oluşturduğu ve en sık izole edilen etkenin *A. baumannii* olduğu vurgulanmıştır (76). Benzer olarak, Tayvan'da 1993-2006 yılları arasında, nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarının epidemiyolojisindeki değişiklikleri belirlemeye yönelik yapılan çok merkezli bir çalışmada, yıllar içinde Gram pozitif bakterilerle gelişen KDE'lerin istatistiksel olarak azaldığını, buna karşın *Candida spp.* ve *A. baumannii* KDE'lerinde önemli artış olduğu vurgulanmıştır (77). ABD'de 2001 yılına karşın 2008 ve 2009 yıllarında kateter kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonlarını belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada, Gram negatif bakteri ve *Candida spp.*'ye göre *S. aureus* enfeksiyonlarında azalma saptandığı belirtilmiştir (78).

Bu çalışmada ise *Candida* spp., %34,2 oranı ile en sık izole edilen etken olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, *A. baumannii*'nin en sık izole edilen gram negatif bakteri olması, hastanemizde bu bakterinin sorun oluşturmaya devam ettiğini göstermektedir. *Candida*'ların artış göstermesi ise gelecekte bu tür suşların yayılımının önlenmesinde sürveyansın önemini ortaya koymaktadır.

Günümüzde YBÜ'deki enfeksiyonların dirençli bakteriler tarafından oluşturulması ampirik tedavi seçeneklerini giderek kısıtlamaktadır (1). Reynolds ve ark. (79) metisilin direncini KNS'larda %76 olarak bulmuşlardır. Ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda, KNS'larda metisilin direnç oranını İnan ve ark. %51 (80), Sevim ve ark. %58 (1), Özakin ve ark. %68 (81) olarak saptamışlardır. Hastanemizde yapılan bir çalışmada ise KNS'larda metisilin direnç oranı %80 olarak bulunmuştur (76). Yine aynı çalışmada enterokok türlerinde glikopeptid direnci rapor edilmezken, penisilin ve yüksek düzey aminoglikozid direnci sırasıyla %26.4 ve %29.8 olarak saptanmıştır (76). Bizim çalışmamızda ise izole edile KNS'lerin tümü oksasiline dirençli olarak saptanırken, glikopeptid direncine rastlanmamıştır.

Son yıllarda enterokoklarda glikopeptid direncindeki artışa rağmen, çalışmamızda teikoplanin ve vankomisin dirençli suşların saptanmaması, hastanemizde gram pozitiflerle oluşan KDE'lerin ampirik tedavisinde duyarlılık testi yapılmaksızın ilk seçenek olarak kullanılabileceklerini göstermektedir.

Aksaray ve arkadaşları YBÜ'deki gram-negatif basillere en etkili ajanın imipenem olduğunu (%75), bunu sırasıyla siprofloksasin, sefepim ve amikasinin izlediğini bildirmişlerdir (82). Hastanemiz YBÜ'ni kapsayan 2007 yılındaki çalışmada ise; *Pseudomonas* spp. piperasilin/tazobaktama, *Acinetobacter* spp.'nin sefaperazon/sulbaktama; diğer gram-negatif basillerin ise imipenem/meropeneme duyarlılığının diğer antibiyotiklere göre daha fazla olduğu görülmüştür (76). Bu çalışmada non-fermentatif gram negatif bakteriler için kolistin, seftazidim ve amikasin; enterik gram negatif bakteriler için imipenem ve amikasin en etkin antibiyotikler olarak belirlenmiştir. Bu sonuçların, klinisyenlerin YBÜ'de KDE şüphesi ile yatan hastalara ampirik tedavi vermeleri gerektiğinde en uygun stratejiyi belirleyebilmeleri açısından yararlı olacağı düşünülmüştür.

Sonuç olarak, KDE ataklarında kan kültürü sayısının artmasıyla birlikte etken saptama oranlarında artış olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca ateşsiz dönemde hastalardan alınan kan kültürlerinde de %22 oranında etken saptanması, ateşsiz dönemlerde de kan kültürü alınmasının KDE'nin laboratuvar tanısına katkı sağlayabileceğini düşündürmüştür.

Ancak, ateşle kan kültürü pozitifliği arasındaki ilişkinin kesin beirlenebilmesi için hastaların klinik bilgilerini de içeren daha kapsamlı çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı sonucuna varılmıştır.

Ayrıca, hastanemizde gelişen KDE enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde potansiyel patojenlerin sıklığının ve direnç oranlarının aralıklarla takip edilmesinin, etkene yönelik antibiyotik kullanımında yararlı olacağı düşünülmüştür.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; KDE düşünölen hastalarda ilk örnekle klinisyen hekimin uygun gördüğü zamanda olmak üzere, 2 saat ara ile 3 kan kültürü örneğı ile daha yüksek oranda etken saptanabileceğı sonucuna varılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ateşin hangi dönemde olduğuna bakılmaksızın, belirli aralıklarla örnekle alınması ile hastalarda kan kültürlerindeki pozitiflik oranlarının arttırılmasına katkı sağlanabileceğı düşünölmüştür. Kültür pozitiflik ve etken saptama oranları temel alınarak, hastaların klinik bulguları eşliğinde yapılacak benzer çalışmalarla, kan kültürü gibi çok önemli ve yararlı bir tanı aracının daha verimli kullanımını sağlanabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Sevim S, Öztürk Ş, Coşkuner A, Özgenç O, Avcı M. BACTEC kan kültür sistemi ile izole edilen mikroorganizmaların değerlendirilmesi. *İnfek Derg (Turk J Infec)*. 2007; 21 (3):135-140
2. 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. *J Clin Microbiol*. 2008; 46 (4): 1381-1385
3. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Çeviri Editörü: Başustaoğlu A. Klinik Mikrobiyoloji Atlas Kitapçılık. Ankara. 2009; sf: 192-196.
4. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editörler. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 3. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. 2008; sf:78-80.
5. Bryan CS. Clinical implications of positive blood cultures. *Clin Microbiol Rev*. 1989; 2:329-353.
6. Weinstein MP, Murphy J., Reller LB, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. II. Clinical observations, with special reference to factors influencing prognosis. *Rev Infect Dis*. 1983; 5:54-70.
7. Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med*. 1993; 328:1471-1477.
8. Washington W Jr, Allen S, Janda W, editors. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2006; pg: 97-105.
9. Musher DM, et al. Bacteremic and nonbacteremic pneumococcal pneumonia: a prospective study. *Medicine*. Baltimore. 2000; 79:210-221

10. Fein AM. Pneumonia in the elderly: overview of diagnostic and therapeutic approaches. *Clin Infect Dis.* 1999; 28:726-729
11. Loeb M. Pneumonia in older persons. *Clin Infect Dis.* 2003; 37:1335-1339
12. McIntosh K. Community-acquired pneumonia in children. *N Engl J Med.* 2002; 346:429-437
13. Siegman-Igra Y. et al. Reappraisal of community-acquired bacteremia: a proposal of a new classification for the spectrum of acquisition of bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2002; 34:1431-1439
14. Martin GS, Mannino DM, Moss M, Eaton S. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003; 348:1546–1554.
15. 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. *Clin Infect Dis.* 1997; 24:584–602.
16. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent S, Seifert MH, Wenzel RP, Edmond MB.. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis.* 2004; 39:309–317.
17. Cockerill FR, Wilson JW, Vetter EA, et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis.* 2004; 38:1724-1730
18. Reller RB, Murray PR, MacLowry JD. 1982. Cumitech 1A, Blood Cultures II. Coordinating ed, J.A. Washington II. American Society for Microbiology. Washington. D.C.

19. Wilson M.L. and Weinstein M.P. General principles in the laboratory detection of bacteremia and fungemia. *Clin Lab Med.* 1994; 14:69-82.
20. Hall MM, Ilstrup DM, Washington II JA. Effect of volume of blood cultured on detection of bacteremia. *J Clin Microbiol.* 1976; 3: 643-645.
21. Ilstrup DM. and Washington II JA. The importance of volume of blood cultures in the detection of bacteremia and fungemia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1983; 1:107-110.
22. Plorde JJ, Tenover FC and Carlson LG. Specimen volume versus yield in the BACTEC blood culture system. *J Clin Microbiol.* 1985; 22:292-295.
23. Tenney JH, Reller LB, Mirret S. Wang LL. Controlled evaluation of the volume of blood cultured in detection of bacteremia and fungemia. *J Clin Microbiol.* 1982; 15:558-561.
24. Baron EJ, Weinstein MP, Dunne WM. Yagupsky JrP, Welch DE, Wilson DM. *Cumited: 1C, Blood Cultures IV. Coordinating cd.* Baron E.J. ASM Press, Washington, D.C. 2005.
25. Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları.* 4. Baskı. İzmir. 2004; sy: 317-328.
26. Auckenthaler R, Ilstrup DM. ve Washington II JA. Comparison of recovery of organisms from blood cultures diluted 10% (volume/volume) and 20% (volume/volume). *J Clin Microbiol.* 1982; 15:860-864.
27. Salventi JE, Davies TA, Randall EL, Whitaker S, Waters JR. Effect of blood dilution on recovery of organisms from clinical blood cultures in medium containing sodium polyanethol sulfate. *J Clin Microbiol.* 1979; 9:248-252.
28. D'Amato RE, Holmes B. Bottone E.J. The systems approach to diagnostic microbiology. *Crit Rev Microbiol.* 1981; 9:1-14

29. Smith JA, Bryce EA, Ngui-Yen JH, Roberts FJ. Comparison of BACTEC 9240 and BacT/ALERT blood culture systems in an adult hospital. *J Clin Microbiol.* 1995; 33:1905-1908.
30. Weinstein MP, Mirrett S, Reimer LG, Wilson ML, Smith-Elekes S, Chuard CR, Joho KL, Reller LB. Controlled evaluation of BacT/ALERT standard aerobic and FAN aerobic blood culture bottles for detection of bacteremia and fungemia. *J Clin Microbiol.* 1995; 33:978-981.
31. Wilson ML, Weinstein MP, Mirrett S, Reimer LG, Smith-Elekes S, Chuard CR, Reller LB. Controlled evaluation of BacT/ALERT standard anaerobic and FAN anaerobic blood culture bottles for the detection of bacteremia and fungemia. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2265-2270.
32. McDonald LC, Fune J, Guido LD, Weinstein MP, Reimer LG, Flynn TM, Wilson ML, Mirret S, Reller LB. Clinical importance of the increased sensitivity of BacT/ALERT FAN aerobic and anaerobic blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 1996; 34: 2180-2184.
33. Dorsher CW, Rosenblatt JE, Wilson WR, Dunne WM, Yagupsky JrP, Welch DE, Wilson DM. Anaerobic bacteremia: decreasing rare over a 15 year period. *Rev Infect Dis.* 1991; 13: 633-636.
34. Lombardi DP. ve Engleberg NC. Anaerobic bacteremia: incidence, patient characteristics, and clinical significance. *Am J Med.* 1992; 92: 53-60.
35. Murray PR, Traynor P, Hopson D. Critical assessment of blood culture techniques : analysis of recovery of obligate and facultative anaerobes, strict aerobic bacteria, and fungi in aerobic and anaerobic blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 1992; 30: 1462-1468.
36. Morris AJ, Wilson ML, Mirret S, Reller LB. Rationale for selective use of anaerobic blood cultures. *J Clin Microbiol.* 1993; 31: 2110-2113.

37. Sharp SE, McLaughlin JC, Goodman JM, Moore J, Spanes SM, Keller III DW, Poppiti RJ. Clinical assessment of anaerobic isolates from blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1993; 17: 19-22.
38. Zaidi AKM, Knaut AL, Mirrett S, Reller LB. Value of routine anaerobic blood cultures for pediatric patients. *J Pediatr.* 1995; 127: 263-268.
39. Riley JA, Heiter BJ, Bourbeau PP. Comparison of recovery of blood culture isolates from two BacT/ALERT FAN aerobic blood culture bottles with recovery from one FAN aerobic bottle and one FAN anaerobic bottle. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 1399-1403.
40. Weinstein M.P. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology and interpretation of results. *Clin Infect Dis.* 1996; 23: 40-46.
41. Hawkins BL, Peterson EM, De La Maza LM. Improvement of positive blood culture detection by agitation. *Diag Microbiol Infect Dis.* 1986; 5: 207-213.
42. Prag J, Nir M, Jensen J, Arpi M. Should aerobic blood cultures be shaken intermittently or continuously? *APMIS.* 1991; 99: 1078-1082.
43. Weinstein MP, Mirrett S, Reimer LG, Reller LB. Effect of agitation and terminal subcultures on yield and speed of detection of the Oxoid Signal blood culture system versus the BACTEC radiometric system. *J Clin Microbiol.* 1989; 27: 427-430.
44. Masterson KC, Mc Gowan J.E.Jr. Detection of positive blood cultures by the BACTEC NR660: the clinical importance of five versus seven days of testing. *Am J Clin Pathol.* 1988; 90: 91-94.
45. Wilson ML, Mirret S, Reller LB. Recovery of clinically important microorganisms from the BacT/ALERT blood culture system does not require testing for 7 days. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1993; 16: 31-34.

46. Bates DW, Goodman L, Lee TH. Contaminant blood cultures and resources utilization: the true consequences of false-positive results. *JAMA*. 1991; 265: 365-369.
47. King TC, Price PB. An evaluation of iodophors as skin antiseptics. *Surg Gynecol Obstet*. 1963; 116: 361-365.
48. Little JR, Murray RR, Traynor P. A randomized trial of povidone-iodine compared with iodine tincture for venipuncture site disinfection: effects on rates of blood culture contamination. *Am J Med*. 1999; 107: 119-125.
49. Strand CL, Wajsbort RR, Sturmman K. Effect of iodofor vs. iodine tincture skin preparation on blood culture contamination rate. *JAMA*. 1993; 269: 1004-1006.
50. Mimoz O, Karim A, Mercat A, Cosserson M, Falissard B, Parker F, Richard C, Samii K, Nordmann P. Chlorhexidine compared with povidoneiodine as skin preparation before blood culture: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 1999; 131: 834-837.
51. Barenfanger J, Drake C, Lawhorn J, Verhuist SJ. Comparison of chlorhexidine and tincture of iodine for skin antisepsis in preparation for blood sample collection. *J Clin Microbiol*. 2004; 37: 1415-1418.
52. Weinbaum FL, Lavie S, Danek M, Sixsmith D, Heinrich GM, Mills SS. Doing it right the first time: quality improvement and the contaminant blood culture. *J Clin Microbiol*. 1997; 35: 53-55.
53. Washington JA II. Blood cultures: principles and techniques. *Mayo Clin Proc*. 1975; 50: 91-98.
54. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis*. 1983; 5: 35-53.

55. Bennett IL, Beeson PB. Bacteremia: a consideration of some experimental and clinical aspects. *Yale J Biol Med.* 1954; 26: 241-262.
56. Strand CL. Blood cultures: Consensus Recommendations in 1988. *Microbiology no. MB 88-1 (MB-172)*. American Society for Clinical Pathologists Check Sample Continuing Education Program, American Society for Clinical Pathologists. Chicago. 1988; 111.
57. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol.* 1994; 32: 2829-2831.
58. IUPS Commission for Thermal Physiology. Glossary of terms for thermal physiology (3. Baskı). *Japanese J. Physiol.* 2001; 51: 245-280. (<http://www.soc.nii.ac.jp/psj/jjp/Glossary.pdf>)
59. Sund-Levander M, Forsberg C, Wahren LK. Normal oral, rectal, tympanic and axillary body temperature in adult men and women: a systematic literature review. *Scand J Caring Sci.* 2002; 16: 122-128.
60. Thomas K.A., Burr R., Wang S.Y. et al. Axillary and thoracic skin temperatures poorly comparable to core body-temperature circadian rhythm: results from 2 adult populations. *Biol Res Nurs.* 2004; 5: 187-194.
61. Moore RY, Danchenko RL. Paraventricular - subparaventricular hypothalamic lesions selectively affect circadian function. *Chronobiol Intern.* 2002; 19: 345-360.
62. Willke TA, Söyletir G, Doğanay M. editörler. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 3. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. 2008; sf: 503-525.
63. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. January 2011.

64. Trautner BW, Clarridge JE, Darouiche RO. Skin antiseptic kits containing alcohol and chlorhexidine gluconate or tincture of iodine are associated with low rates of blood culture contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2002; 23: 397-401.
65. Kim SD, McDonald LC, Jarvis WR. et al. Determining the significance of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures at a community hospital: A role for species and strain identification. *Infect Cont Hosp Epidemiol.* 2000; 21: 213-217.
66. Raymond J, Aujard Y. Nosocomial infections in pediatric patients: a European, multicenter prospective study. European Study Group. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21: 260-263.
67. Özçetin M, Saz EU, Karapınar B. Hastane Enfeksiyonları; Sıklığı ve Risk Faktörleri. *Çocuk Enf Derg.* 2009; 3: 49-53
68. Rodríguez-Bano J, Picon E, Gijon P. et al. Risk Factors and Prognosis of Nosocomial Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(5): 1726–1731.
69. Varani S, Stanzani M, Paolucci M. et al. Diagnosis of bloodstream infections in immunocompromised patients by real-time PCR. *Jour Infec.* 2009; 58(5): 346-351
70. Bouza E, Molina JP, Munox J. on behalf of the Cooperative Group of the European Study Group on Nosocomial Infections (ESGNI). Report of ESGNI 001 and ESGNI-002 studies. Bloodstream infections in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 1999; 5: 2S1-2S12
71. Çiçek A, Kuzucu Ç, Durmaz B. Kan Kültür Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Etkili Olan Faktörler. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2005; 12(4): 277-280.
72. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: How many blood cultures are needed? *J Clin Microbiol.* 2007; p: 3546-3548.

73. Akalın H, Özakın C, Erener B. ve ark. BACTEC otomatize kan kültür sistemi ile 1993-1996 yıllarında alınan sonuçların değerlendirilmesi. Tekeli E., Wilke A. ed. 8. Türk Kl. Mikrobiyoloji ve İnf. Hast. Kong. (5-10 Ekim 1997, Antalya). Kongre Özet Kitabı. İstanbul. KLİMİK Derneği 1997; sy: 504
74. Köseoğlu Ö, Öztoklu İ, Tezcan S. ve ark. Kan kültürlerinin mikrobiyolojik ve klinik değerlendirilmesi. İnfek Hast Derg. 2000; 14: 387-392.
75. Sümerkan B. Nozokomiyal sepsis: Etyoloji ve mikrobiyolojik tanısı. İnfek Hast Derg. 1998; 2: 182-187.
76. Ok G, Gazi H, Tok D, Erbüyün K. Celal Bayar Üniversitesi Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi'nde Hastane İnfeksiyonlarının Sürveyansı. Yoğ Bak Derg. 2007; 7(4): 452-457.
77. Liu CY, Liao CH, Chen YC. Changing Epidemiology of Nosocomial Bloodstream Infections in 11 Teaching Hospitals in Taiwan Between 1993 and 2006. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2010; 43(5): 416-429
78. Centers for Disease Control and Prevention. Vital Signs: Central Line–Associated Blood Stream Infections — United States, 2001, 2008, and 2009. MMWR. 2011 / Vol. 60 / No. 8
79. Reynolds R, Potz N, Colman M. et al. Antimicrobial susceptibility of the pathogens of bacteremia in the UK and Ireland. 2001-2002 The BSAC Bacteremia Resistance Surveillance Programme. J Antimicrob Chemother. 2004; 53: 1018-1032.
80. İnan N, Özgenç O, Oran E, Sancaktaroğlu İ. Koagülaz-pozitif ve koagülaz-negatif stafilokokların in vitro antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. İnfek Derg. 1992; 6: 303-306.
81. Özakalın C, Yılmaz E, Coşkun Y, Sırtaş M, Gedikoğlu S. UÜTF Bakteriyoloji Laboratuvarında 2001 yılında değerlendirilen kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (30 Eylül-5 Ekim 2002, Antalya). İstanbul. Başak Matbacılık. 2002; sy: 283.

82. Aksaray S, Dokuzoğuz B, Güvener E, et al. Surveillance of antimicrobial resistance among gram negative isolates from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother.* 2000; 45: 695-699.