

**T.C.  
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ BİRİMİ**

**Proje No:**

NKUBAP.00.20.AR.13.09

**PROJENİN ADI**

Kan Kültüründeki Üreme Etkene mi ait? Kontaminasyon mu?

**Proje Ekibi:**

**Yürütücü:**

Doç.Dr. Aynur Eren Topkaya

**Araştırmacı(lar)**

Doç.Dr. Hayati Güneş

Öğrenci Abdullah Gümüş

Araş.Gör. REYHAN MUTLU

Yrd.Doç.Dr. Filiz TURAN

Yrd.Doç.Dr. Bünyamin Cüneyt TURAN

OCAK 2015  
TEKIRDAG

<b>Proje No:</b> NKUBAP.00.20.AR.13.09
<b>Proje Başlığı:</b> Kan Kültüründeki Üreme Etkene mi ait? Kontaminasyon mu?
<b>Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar:</b> Doç.Dr. Aynur Eren Topkaya(Yürütücü),Doç.Dr. Hayati Güneş,Öğrenci Abdullah Gümüş,Araş.Gör. REYHAN MUTLU,Yrd.Doç.Dr. Filiz TURAN,Yrd.Doç.Dr. Bünyamin Cüneyt TURAN
<b>Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:</b> TIP FAKÜLTESİ TIP Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
<b>Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:</b> 25/12/2013-25/06/2014
<b>Öz (en çok 70 kelime):</b> Çalışmamızda, Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Yoğun Bakım Ünitesinde yatan ve immünkompetan hastalardan alınan kan kültür şişeleri (BACTEC 9120 Becton Dickinson,USA) değerlendirilmiştir. Şişelerde üreme olduğunda hastalardan ve sağlıklı kontrollerden alınan hemogram tüplerinde, üreyen mikroorganizma ile bakterisidal testler çalışılmış, sonuçlar koloni sayımı olarak ( KOB/ml) kaydedilmiş ve 0.-4. saatlerdeki değerlerinin ortalamaları alınarak istatistiksel karşılaştırmaları yapılmıştır.
<b>Anahtar Kelimeler:</b> Kan kültürü, Etken/ kontaminant, Bakterisidal test
<b>Projeden Yapılan Yayınlar:</b>



## **PROJE SONUÇ RAPORU**

### **Önsöz:**

“Kan Kültüründeki Üreme Etkene mi ait? Kontaminasyon mu?” başlıklı projemiz, bakteriyemi, fungemi, sepsis tanısı ile izlenen hastaların etkenlerinin erken tanımlanması ve mortalitenin azaltılması amacıyla planlanmış olup Namık Kemal Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Projenin tamamı Namık Kemal Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezinde çalışılmıştır.

### **İçindekiler:**

<b>Özet (Abstract)</b>	<b>5.sayfa</b>
<b>Proje ana metni</b>	<b>6- 7</b>
<b>Referanslar</b>	<b>8</b>
<b>Ekler</b>	<b>9</b>

## Özet (Abstract):

**Amaç:** Bakteriyemi ve fungemilerin yaklaşık olarak % 30-40 ının tanısını sağlasa da kan kültürü halen altın standarttır. Kan kültüründe mikroorganizmaların hızlı tanınması ve tedaviye erken başlanması mortalite oranını önemli ölçüde düşürmektedir. Otomatize sistemler üreme süresini kısaltmış ve kültürlerin takibini kolaylaştırmıştır. Ancak, içerdikleri zengin besiyeri nedeniyle kontaminasyon oranları da artmıştır. Kan kültüründe üreme olduğu zaman etken/kontaminant ayrımı yapmak kritik önem arz etmektedir. Üreme saptanan şişe/set sayısı, üreme süresi, üreyen mikroorganizma türü, diğer laboratuvar ve klinik bulgular üremenin anlamlı olup olmadığına karar vermek için sıklıkla başvurulmuş parametrelerdir. Ancak özellikle yalnızca tek şişe örnek alınan hastalarda bu şişede hem etken hem de kontaminant olabilecek bir mikroorganizma ürediğinde bu üremeyi yorumlamak oldukça zordur. Bu çalışmada bakterisidal testin kan kültürlerinin değerlendirilmesine katkısı araştırılmıştır

**Yöntem:** Çalışmaya, Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Yoğun Bakım Ünitesinde yatan ve nötroopenik olmayan hastalardan alınan kan kültür şişeleri (BACTEC 9120 Becton Dickinson,USA) dahil edilmiştir. Şişelerde üreme olduğunda hastadan ve sağlıklı kontrolden hemogram tüplerine kan alınmış, kan kültür şişesinde üreyen mikroorganizma ile hasta ve kontrol kanları 4 saat boyunca 37 °C de rotatorda karşılaştırılmış ve 0., 1., 2., 3. ve 4 saatlerde hemogram tüplerinden alınan örnekler kalibre özelerle % 5 koyun kanlı agar ekilmiş, 18-20 saatlik inkübasyon sonunda koloni sayımları yapılarak kaydedilmiştir. Üreyen mikroorganizma türü, hastanın kliniği ve inflamasyon belirteçleri temel alınarak etken ve kontaminant ayrımı yapılmış ve bulgular buna göre irdelenmiştir. Hem etken hem de kontaminant kabul edilen örnekler için, hastalar ve kontrol grubu kanlarıyla çalışılan bakterisidal test sonuçları koloni sayımı olarak ( KOB/ml) kaydedilmiştir. 26 etken ve 14 kontaminant üreme için hasta ve kontrol kanlarıyla elde edilen koloni sayımlarının 0.-4. saatlerdeki değerlerinin ortalamaları alınmış ve istatistik karşılaştırmaları non- parametrik Mann- Whitney testi ile yapılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmaya alınan 40 adet kan kültüründeki üremelerin 26'sı etken 14'ü kontaminant olarak gruplanmıştır. Etkenler için, hasta grubunda 0.-4. saatlerdeki ortalama KOB/ml değerleri 911-365 iken, kontrol grubunda 919-790 olarak saptanmıştır. Bu değerler kontaminantlar için sırasıyla 828-431 ve 878-480 olmuştur.

**Sonuç:** Etken ve kontaminant kabul edilen kan kültürü üremeleri için, hasta ve kontrol grubunda elde edilen KOB/ml değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, etken grupta 1. saatten itibaren hasta ve kontrollere ait değerler arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır. Bu fark 2. saatte oldukça ileri düzeye ulaşmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre, kan kültürü şişesinde üreme saptandığında hastadan alınan kan örneği ile üreyen mikroorganizma kullanılarak yapılan bakterisidal test üreyen mikroorganizmanın etken mi? yoksa kontaminant mı? olduğunu yorumlamak için güvenilir bir parameter olma özelliği taşımaktadır.

## Proje ana metni:

### GİRİŞ

Kan dolaşımı enfeksiyonları hastanede yatan hastalarda en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Bunu saptamak için alınan kan kültürlerinin sonuçlarının doğru yorumlanması klinik mikrobiyoloji laboratuvarının en önemli işlerinden biridir. Kan kültürü, bakteriyemi veya fungemi tespiti için en duyarlı yöntemdir. Etkenlerin mümkün olduğu kadar kısa sürede saptanması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılarak doğru tedavinin yönlendirilmesinde ve mortalitenin azaltılmasında kan kültürü sonuçları büyük önem arz etmektedir. Hızlı tanı için nükleik asit problemleri, PCR gibi çeşitli moleküler teknikler geliştirilmiş olmasına rağmen hala en duyarlı ve güvenilir yöntem kan kültürüdür.

Kan kültürü için geliştirilmiş olan çeşitli otomatize sistemler tüm dünyada ve yurdumuzda yaygın olarak kullanılmaktadır. Manuel yöntemlerle karşılaştırıldığında otomatize sistemlerde üremenin saptanma süresi oldukça kısalmıştır. Ancak bu yöntemlerin hassasiyeti nedeniyle cilt antisepsisinin ve şişe kapağı dezenfeksiyonunun uygun yapılmaması ve zengin besiyeri içeriği nedeniyle, saptanan kontaminasyon oranı da artmıştır.

Kan kültürü pozitifliğini, özellikle kontaminant olabilecek mikroorganizmalar ürettiğinde ve çeşitli nedenlerle birden fazla örnek alınamayan durumlarda doğru yorumlamak, klinik mikrobiyoloji laboratuvarı için önemli bir sorundur. Üreme süresini etkileyen; mikroorganizmanın cinsi ve antibiyotik duyarlılık durumu arasındaki ilişki, alınan kandaki mikroorganizma yükü, örnek alındıktan sonra oda ısısında bekleme süresi gibi değişkenler de düşünülürse bu örneklerin raporlanmasının kolay olmadığı açıktır. Kan kültürü sonuçlarının hızlı ve doğru yorumlanması; etkenlerin mümkün olduğu kadar kısa sürede saptanmasını, antibiyotik duyarlılık testlerinin doğru raporlanarak, tedavinin yönlendirilmesini ve böylece mortalitenin azaltılmasını sağlar.

Bu araştırmada, kan kültüründe pozitiflik saptandığında üreyen mikroorganizmaların etken mi yoksa kontaminant mı olduğunu ayırt etmek için enfeksiyon patogenezinin önemli bir basamağı olan, etken mikroorganizmaya bağışıklık sistemin tepkisinden yararlanılması amaçlanmıştır. Üreyen mikroorganizma kontaminant ise bağışık yanıtını uyarmamış ancak etken ise uyarmış olmalıdır ilkesinden hareket edilerek, fagositoz yapan hücrelerin kültürde üreyen mikroorganizmaya etkileri araştırılacaktır.

### GEREÇ VE YÖNTEM

Kan kültüründe pozitiflik saptandığında, hasta ve sağlıklı kontrolden antikoagulanlı tüplere kan alındı. Pozitif kan kültürü şişesi 5 dk. rotatorda tutuldu. Kan kültürü şişesinden 100 µl alınarak 9.9 ml. sıvı besiyerinde dilüe edildi. Sıvı besiyerinden 100'er µl. alınarak, 2ml. hasta kanı içeren, 2ml. kontrol kanı içeren iki adet hemogram tüpüne aktarıldı. Hemogram tüpleri 5 dk. rotatorda tutuldu. Her iki hemogram tüpünden kalibre öze kullanılarak 10'er µl. koyun kanlı agara sayım plağı şeklinde ekim yapıldı. Bu petriyerler 0. Saat olarak işaretlendi. Hemogram tüpleri rotator ile etüve yerleştirildi ve 4 saat boyunca inkübe edildi. Bu sırada 1.,2.,3. ve 4. saatlerde 10 µl. sayım plağına ekim işlemleri tekrarlandı. Hasta ve sağlıklı kontrol kanıyla çalışılan her petri seti 18-20 saat sonra değerlendirilerek koloni sayımı yapıldı ve sonuçlar KOB/ml olarak kaydedildi. Başlangıçtaki (0.) 1.,2., 3. ve 4. saatteki üremeler her hasta için ayrı bir grafikte işaretlendi.

Çalışmanın sonuçlarının istatistiksel karşılaştırması non- parametrik Mann- Whitney testi ile yapıldı

### BULGULAR

Proje süresince Takip edilen 200 kan kültüründen, 26 sı etken 14 ü kontaminant olmak üzere toplam 40 şişede üreme saptandı. Etken ve kontaminant kabul edilen üremelerin hasta ve kontrol grubu ile çalışılan bakterisidal test sonuçları Tablo1. ve Tablo 2. de verilmiştir.

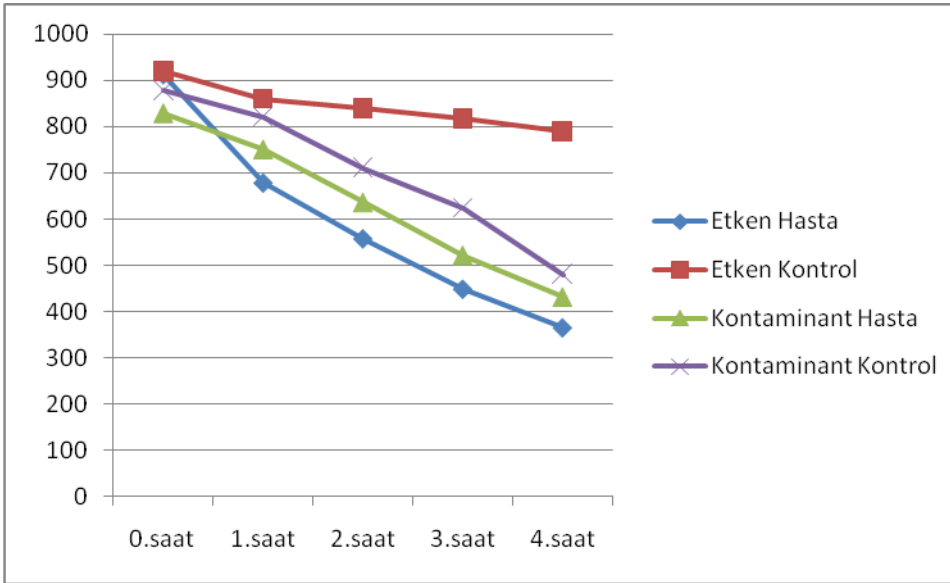
**Tablo1. Etkenlere ait hasta ve kontrol grubu test sonuçları (KOB/ml)**

ETKEN	0.SAAT		1.SAAT		2.SAAT		3.SAAT		4.SAAT	
	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol
En Düşük	200	200	15	5	0	3	0	0	0	0
En Yüksek	1000	1000	1000	1100	1000	1200	1000	1300	1000	1400
Ortalama	911,54	919,23	677,88	859,81	557,50	838,58	448,62	817,31	365,42	790
Ortanca	1000	1000	800	1000	700	1000	400	950	150	950

**Tablo 2. Kontaminantlara ait hasta ve kontrol grubu test sonuçları (KOB/ml)**

KONTAMİNANT	0.SAAT		1.SAAT		2.SAAT		3.SAAT		4.SAAT	
	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol
En Düşük	100	500	5	200	0	50	0	10	0	0
En Yüksek	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ortalama	828,57	878,57	750,36	821,43	635,71	710,71	521,43	623,57	431,43	480,14
Ortanca	1000	1000	800	900	600	800	500	800	300	600

Her iki grup için hasta ve kontrol kanlarıyla çalışılan bakterisidal testlerin 0.-4. saatlere ait ortalama KOB/ml değerleri grafikte gösterilmiştir.



## TARTIŞMA VE SONUÇ

Etken ve kontaminant kabul edilen kan kültürü üremeleri için, hasta ve kontrol grubunda elde edilen KOB/ml değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, etken grupta 1. saatten itibaren hasta ve kontrollere ait değerler arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ( $p=0.02$ ). Bu fark 2. saatte oldukça ileri düzeye ulaşmıştır ( $p=0.004$ ). Kontaminant grupta ise hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel bir fark saptanmamıştır ( $p>0.5$ ).

Çalışmamızın sonuçlarına göre, kan kültürü şişesinde üreme saptandığında hastadan alınan kan örneği ile üreyen mikroorganizma kullanılarak yapılan bakterisidal test üreyen mikroorganizmanın etken mi? yoksa kontaminant mı? olduğunu yorumlamak için güvenilir bir belirteç olma özelliği taşımaktadır.

## Referanslar:

1. Ntusi N, Aubin L, Oliver S, Whitelaw A, Mendelson M. Guideline for the optimal use of blood cultures. S Afr Med J 2010; 100(12): 839-43.
  2. Chiarini A, Palmeri A, Amato T, Immordino R, Distefano S, Giammanco A. Detection of bacterial and yeast species with the Bactec 9120 automated system with routine use of aerobic, anaerobic, and fungal media. J Clin Microbiol 2008; 46(12): 4029-33.
- MİKROBİYOLOJİ BÜLTENİ 139
- Balıklar A, Belas Z, Eren Topkaya A.
3. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. Clin Microbiol Rev 2006; 19(4): 788-802.
  4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Principles and procedures for blood cultures. Approved Guideline M47-A, 2007. CLSI, Wayne, PA.
  5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 20th Informational Supplement. Document M100-S20. 2010. CLSI, Wayne, PA.
  6. Durmaz G, Us T, Aydinli A, Kiremitci A, Kiraz N, Akgun Y. Optimum detection times for bacteria and yeast species with the BACTEC 9120 aerobic blood culture system: evaluation for a 5-year period in a Turkish university hospital. J Clin Microbiol 2003; 41(2): 819-21.
  7. Janjindamai W, Phetpisal S. Time to positivity of blood culture in newborn infants. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2006; 37(1): 171-6.
  8. Gopi A, Ravikumar KL, Ambarish MG, et al. Time to positivity of microorganisms with BACTEC 9050: an 18-month study among children of 28 days to 60 months in an South Indian tertiary hospital. Intl J Microbiol Res 2011; 2(1): 12-7.
  9. Kim J, Gregson DB, Ross T, Laupland KB. Time to blood culture positivity in *Staphylococcus aureus* bacteremia: association with 30-day mortality. J Infect 2010; 61(3): 197-204.
  10. Khatib R, Riederer K, Saeed S, et al. Time to positivity in *Staphylococcus aureus* bacteremia: possible correlation with the source and outcome of infection. Clin Infect Dis 2005; 41(5): 594-8.
  11. Lai CC, Wang CY, Liu WL, Hou CC, Huang YT, Hsueh PR. Time to blood culture positivity as a predictor of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia. J Infect 2011; 62(2): 190-1.



**Ekler:**

**Çalışmanın sonuçlarının kayıt edilmesi için oluşturulmuş formlar.**