
Kan Kùltürleri ve Klinik Önemi

Halis AKALIN

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakùltesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve İnfeksiyon Hastalıkları Kliniđi, BURSA

ÖZET

Hastanın kanında mikroorganizmanın saptanması sadece tanı açısından değil, tedavi ve prognoz yönünden de oldukça önemlidir. Kanda bakteri geçici, aralıklı veya devamlı olmak üzere üç şekilde bulunur. Klinikte kan kùltürlerinden en yüksek düzeyde yararlanmak için kan kùltürü alımında deri antisepsisinden başlamak üzere, zamanlama, alınan kùltür sayısı, alınan kanın miktarı, kùltür ortamının içeriği ve kullanılan yöntem oldukça önem taşır. Ayrıca hastanın immün yetmezliğinin olması veya intravasküler kateterinin bulunması da dikkatle değerlendirilmesi gereken durumlardır. Her pozitif kan kùltürü klinik olarak anlamlı olmayabilir. Özellikle deri flora elemanlarının yorumunda sadece kùltür sayısına bağlı kalarak yorum yapmak bazen yanıltıcı olabilir. Klinisyen ve laboratuvar arasındaki iyi iletişim kan kùltürlerinin yararlılığını arttırır.

Anahtar Kelimeler : Kan kùltürleri, Bakteriyemi

SUMMARY

Blood Cultures and Clinical Significance

The detection of a microorganism in the blood of a patient is not only important for diagnosis but also important in terms of therapy and prognosis. Bacteria can persist in three manners in blood; transiently, intermittantly or continuously. To provide a benefit from blood cultures several points have to be considered including skin antisepsis, timing and frequency of culture, amount of blood taken, contents of culture media and culture method used. In addition, patient with immunodeficiency or intravascular catheter needs to be carefully evaluated. Every positive blood culture may not be clinically significant. Especially, in interpretation of skin flora elements, evaluation only made by taking into account the number of cultures taken may not be significant always. Good communication between the clinician and microbiology laboratory increases the usefulness of blood cultures.

Key Words : Blood Cultures, Bacteremia

Kanda Bakteri Bulunması ve Klinik Anlamı

Hastanın kanında mikroorganizma saptanması sadece tanı açısından değil tedavi ve prognoz açısından da oldukça önemlidir. Hastanede yatış sırasında kan kùltürü pozitif olgularda, kan kùltürü negatif olgulara göre ölüm riskinin 12 kez yüksek olduğu gösterilmiştir (1).

Kanda bakteri üç şekilde bulunur. Bu aynı zamanda bakterinin kana geçiş yolunu yansıtır.

a. Geçici bakteriyemi: Enfekte dokulara yapılan girişimler, sistoskopi, diş çekimi, üretral dilatasyon, sigmoidoskopi, yanıkların temizlenmesi gibi durumlarda bakteriler kana geçici olarak karışabilirler. Bu durumda kandaki bakteri miktarı çok az ve kanda bulunuş süresi çok kısadır.

b. Aralıklı olarak: Genellikle doku ve organlardaki kapalı lezyonlardan (abse, ampiyem) veya diffüz infeksiyonlardan (sellülit, peritonit, septik artrit) bakteriler önce lenf yollarına, oradan da arasıra olmak üzere kana karışır.

c. Devamlı olarak: Endokarditlerde, intravasküler infeksiyon odaklarının olduğu, enfekte kateterlerin bulunduğu hallerde ve bunlardan ayrı olarak tifo, bruselloz gibi infeksiyonların erken dönemlerinde görülür. Bununla birlikte bakteriyemilerin 1/3'ünde mikroorganizmaların kaynağı saptanamaz (2).

Klinikte kan kùltürlerinden en yüksek düzeyde yararlanabilmek için aşağıdaki noktalara dikkat edilmelidir.

Kan Kùltürü Nasıl Alınmalıdır?

1. Hematolojik, biyokimyasal vb. gibi tetkikler için kan alırken kan kùltürü alınmamalıdır. Çok amaçlı alımlarda kontaminasyon riski artar.

2. Her kan kùltürü alımında farklı venden almak gerekir. Eğer kan kùltürü alımı için uygun ven bulunamıyorsa ya da kateter kaynaklı sepsis düşünülüyorsa bu durumda kateterden alınabilir.

3. Kùltür alınacak ven palpe edildikten sonra, deri merkezden periferik doğru %70'lik etil alkolle temizlenir. Ardından 30 sn. %1-2'lik iyod tentürü uygulanır. %70'lik alkolle kalan fazla iyod çıkarılır. Derinin iyi temizlenmemesi koagülaz negatif stafilokok, *Corynebacterium* spp. ve *Propionibacterium* spp. gibi deri kontaminantlarının kan kùltürlerinde üremelerinde en yaygın nedendir.

4. Kan kùltürü alımında steril eldivenle çalışmak tercih edilir. Kan alımında ilk girişim başarısız kalmışsa yeni bir set kullanılmalıdır.

5. Kan kùltürü alınacak şişelerin ağızları alkol ya da iyod tentürü ile dezenfekte edilmelidir. BACTEC şişelerinin septum temizliğinde iyod tentürü kullanılmalıdır.

6. Kan kùltürü alımında enjektörün ucundaki iğnenin değişimine gerek yoktur. Kan kùltür şişesine konduktan sonra pıhtılaşmaması için yavaşça sallanarak karıştırılır.

7. Kan kùltür istek formuna hangi venden alındığı, hangi saatte alındığı ve kateterden alınıp alınmadığı mutlaka yazılmalıdır (3-6).

Kan Kùltürü Ne Zaman ve Kaç Tane Alınmalıdır?

İdeal olarak kan kùltürü ateş yükselmeden bir saat önce alınmalıdır. Genellikle pratikte bu mümkün olmamaktadır. İlk kùltür alımını izleyen 24 saat içinde alınacak ikinci kùltür için optimal bir zaman saptanamamıştır. Çoğu zaman bunu antibiyotik tedavisinin ciddiyeti belirlemektedir (7).

Sepsis, menenjit, osteomyelit, artrit, pnömoni ve pyelonefrit gibi durumlarda 15-20 dakika içinde iki veya üç farklı venden kan kùltürü alınmalıdır. Akut endokarditlerde ilk 1-2 saat içinde üç farklı venden örnek alınmalı, subakut endokarditlerde ise birinci gün 15 dakika veya daha fazla aralarla üç örnek alınmalı, ikinci gün üreme saptanamamışsa üç farklı örnek daha alınmalıdır. Tedavi altındaki endokarditli hastada, üç başarılı gün sonrası iki kùltür daha alınabilir. Antibiyotik alan hastalarda ise 48 saat içinde altı kan kùltürü alınmalı ve antibiyotik düzeylerinin en az olduğu dönemde (oluk dönemi) alınmaya çalışılmalıdır (4).

Acil olmayan durumlarda 24 saatte iki-üç kan kùltürü alınabilir. Epizodların %80-91.5 arasındaki bölümü ilk alınan kan kùltüründe, %99.3'ü ilk iki kan kùltüründe saptanmaktadır (8,9).

Başlangıçta alınan kan kùltürleri negatif ise ve hastanın klinik ve hemodinamik durumunda değişiklik yoksa, günde birkaç kez ateş yükselmesinde kan kùltürü almaktan kaçınılmalıdır. Gerçek bakteriyemi saptandıktan sonra kan kùltür tekrarı veya izlenmesi çoğu zaman gereksizdir. Tedaviye cevap vermeyen veya klinik olarak kötüleşen hastalarda tekrar kùltür alınmalıdır (3).

Alınan Kan Kùltürlerinin Miktarı Ne Olmalıdır?

Alınan kan hacmi kan kùltürlerinin duyarlılığını etkileyen en önemli faktördür. Genellikle bakteriyemilerin %50'sinde bakteri sayısı mL'de 1 CFU veya daha az, %20'sinde 0.1 CFU/mL'dir. Alınan her 1 mL fazla kan kùltür pozitiflik oranını %3 artırmaktadır (10).

Erişkinlerde her farklı kan kùltürü alımında önerilen kan hacmi 10-30 mL'dir. Eğer hasta için hazırlanan protokolde anaerobik ve fungal yönden ekim yoksa, sadece aerobik ekim için 10 mL almak yeterlidir. Otuz mL'den fazla almamak gerekir, çünkü nozokomiyal anemiye neden olur (3).

Çocuklarda bakteriyemi sırasında mikroorganizma konsantrasyonu erişkinlerden fazladır. Yenidoğanda 1-2 mL, bebeklerde 2-3 mL ve çocuklarda 3-5 mL almak yeterlidir (11).

İmmün Yetmezlikli Hastalarda Yaklaşım Nasıl Olmalıdır?

İdeal olarak immün yetmezlikli hastalarda alınacak kùltürde aerobik ve anaerobik bakteriler, mantarlar, mikobakteriler ve bazı virüsler (HIV, CMV) izole edilebilmelidir. Bu, günümüz için pratik değildir ve oldukça pahalıdır (12).

İmmün yetmezlikli bir hastada kuvvetli infeksiyon olasılığına rağmen kan kùltürleri negatif kalıyorsa, ilk olarak uygun kan kùltür tekniklerinin kullanılıp kullanılmadığı tartışılmalıdır. Kemik iliği ve karaciğer biyopsi kùltürlerinin de tanıda oldukça destekleyici olduğu unutulmamalıdır (13).

İmmün yetmezlikli hastalarda kanda dolaşan mikroorganizma sayısının diğer hastalara göre daha yüksek olması, kanın direkt olarak mikrobiyolojik incelemesinde tanı değerinin artmasına yol açmaktadır (14).

Kateterli Hastalarda Kan Kùltürleri

Kateterle ilişkili bakteriyemi düşünüldüğünde kateter ucu kùltürü mutlaka yapılmalıdır. Maki'nin yarıkantitatif tekniği en sık kullanılan yöntemdir (15).

Aynı mikroorganizmanın hem kateter ucundan hem de periferik kan kùltüründen izole edilmesi katetere bağlı bakteriyemi için oldukça destekleyicidir (16).

Uzun süre kalan kateterlerde bakteri sıklıkla kateterin içinde bulunur. Bu durumda kantitatif buyyon kùltürü veya periferik kan ve kateterden alınan kanın kantitatif kùltürünün yapılması daha duyarlıdır (17).

Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Kan Kùltürleri

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında kan kùltürleri için otomatik olmayan ve otomatik yöntemler mevcuttur.

Otomatik olmayan yöntemler:

- a. Konvansiyonel monofazik sıvı besiyerleri
- b. Difazik besiyerleri (Castenada)

c. Lisis santrifügasyon yöntemi (4).

Konvansiyonel sıvı besiyerlerinde triptik soya buyyonu, beyin-kalp infüzyon buyyonu gibi besiyerleri kullanılır ve ayrıca bir antikoagülan olan sodium polyanethol sulfonate (SPS) mevcuttur. Burada üreme; bulanıklık, hemoliz, gaz oluşumu, kùltürden Gram boyama veya agar plağına kùltür yapılarak tesbit edilir (18).

Difazik sıvı besiyerlerinde ise sıvı kùltür ortamına ilave olarak şişenin bir yüzünde agar içeren katı besiyeri bulunur. Böylece sıvı besiyeri, şişe ters çevrilerek katı besiyeri ile temas ettirilir ve böylece kolonilerin gözle görünmesi sağlanır (5).

Lisis santrifügasyon yönteminde kan, saponin, SPS, fluorinert ve EDTA'dan oluşan lisis sıvısı içeren bir tüpe konur ve yüksek devirde santrifüje edilir. Süpernatant atılarak çökeltiden kùltür yapılır. Önemli avantajlarının yanında kontaminasyon oranının yüksek olduğu unutulmamalıdır (19).

Otomatik yöntemleri üç kuşağa ayırarak inceleyebiliriz:

1. kuşak: Radyometrik kan kùltür sistemleri: Besiyeri ortamında radyoaktif işaretli ^{14}C mevcuttur. Mikroorganizma ürettiğinde bunu kullanır ve ortamda $^{14}\text{CO}_2$ oluşur. Sistem bunun radyometrik olarak okunmasına dayanır.

2. kuşak: Non-radyometrik kan kùltür sistemleri: Mikroorganizmanın ürettiği zaman açığa çıkardığı CO_2 'in şişe içinde bulunan sensor boyada oluşturduğu renk değişimi spektrofotometrik olarak ölçülür veya oluşan fluoressans okunur.

3. kuşak: Üremeyi sürekli izleyen kan kùltür sistemleri: Bu yöntemin önemli bir avantajı bilgisayar desteğinde kùltürlerin sürekli izleme olanağı olmasıdır. Ayrıca otomatik yöntemlerin önemli avantajlarından biri, oldukça hızlı sonuç veren yöntemler olmasıdır (20).

Kanın Mikroskopik İncelemesi

Kanın mikroskopik incelemesinde kan protozoonları, *Borrelia* ve *Leptospira* aranabilir (21).

Kanın veya "buffy coat"ın direkt mikroskopik olarak bakteri açısından taranması zaman alıcı ve duyarsız bir yöntemdir (22).

Total parenteral beslenme alan hastaların kateterinden alınan kandan yapılan Gram boyamada bakteri görülmesi sepsis tanısında yardımcı olabilir.

İmmünsüpresif hastalarda santral venöz kateterlerden alınan kandan yapılan periferik yaymada int-

rasellüler bakteri görùlmesi kateter infeksiyonu açısından anlamlı olabilir (23,24).

Kan Kùltür Sonuçları Klinikte Nasıl Değerlendirilmelidir?

Her pozitif kan kùltürü klinik olarak anlamlı değildir. Optimal şartlarda bile %2-3 oranında kontaminasyon olur. Gerçek pozitifliği yalancı pozitiflikten ayırmak da her zaman kolay değildir (3).

Kontaminant bakteriyi ayırmak için şu noktalara dikkat edilmelidir.

- Mikroorganizmanın cinsi
- Klinikle uyum
- Üreme zamanı
- Kaç kan kùltüründe ürediğı
- Birçok deri florasına ait mikroorganizmanın varlığı
- Kan kùltürünün etkili antibiyoterapi sırasında alınıp alınmadığı
- Üreme olmayan kan kùltür sayısı (25).

Genellikle kontaminant bakteriler deri florası elemanlarıdır. Diğer veya takip edilen kùltürlerde yoktur. Uzun bir inkübasyon sonrası izole edilirler (3,10).

Koagülaz negatif stafilokoklar, *Corynebacterium* spp, *Propionibacterium acnes* gibi deri flora bakterileri birkaç kan kùltüründen birinde izole edildiğı zaman kontaminant kabul edilirler. Bununla birlikte koagülaz negatif stafilokokların bu şekilde kontaminant olarak kabul edilmesi klinik olarak anlamlı bir epizodun atlanmasına da neden olabilir (3,8).

Koagülaz negatif stafilokoklar iki veya daha fazla kan kùltüründen izole edildikleri zaman anlamlı olarak kabul edilirler. Bununla birlikte suşlar fenotipik ve genotipik olarak tiplendirilmeden bunun gerçek bakteriyemi olduğunu söylemek her zaman mümkün değildir. Bunlar birbiriyle ilişkisiz kontamine suşlar ya da rekontaminasyona bağılı olabilirler. Bundan dolayı iki veya daha fazla kan kùltüründen koagülaz negatif stafilokok izole edildiğinde, en azından antibiyotik duyarlılıkları karşılaştırılmalıdır. Görüldüğü gibi deri flora elemanlarının yorumunda sadece kùltür sayısına bağılı kalmak yanıltıcı olabilmektedir (25).

Genellikle kan kùltüründen birkaç farklı mikroorganizmanın izolasyonu kontaminasyonu destekler. Bununla birlikte yapılan bir çalışmada septik epizodlarda polimikrobiyal bakteriyemi %21 oranında rapor edilmiş ve monomikrobiyal bakteriyemiye göre daha yüksek mortaliteye sahip olduğı gösterilmiştir.

Polimikrobiyal bakteriyemi altta yatan ciddi hastalığı olanlarda, intraabdominal infeksiyonlarda veya obstrüksiyonlarda ve non-hematolojik malignitelerde daha sık olmaktadır (9,26,27).

Sonuç olarak kan kùltürleri hastadan örnek alımından başlayarak, laboratuvarında değerlendirme, takip etme ve sonuçların klinik yorumuna kadar hastanın tanı ve tedavisine etki edebilecek herbiri ayrı önem taşıyan dönemlerden geçer. Tüm bu dönemlerde kurallara uyulması ve klinik-laboratuvar işbirliği kan kùltürlerinin yararlılığını arttırır.

KAYNAKLAR

- Bryan CS. Clinical implications of positive blood cultures. Clin Microbiol Rev 1989;2:329-53.
- Baykal M. Klinikle İlişkili Mikrobiyolojik İşlemler. Ed: Kanra G, Akalin E. Infeksiyon Hastalıkları, Ankara: Güneş Kitabevi, 1991, 1-31.
- Chandrasekar PH, Brown WJ. Clinical issues of blood cultures. Arch Intern Med 1994;154:841-9.
- Pezzlo M. Processing and Interpretation of Blood Cultures. In: Henry D Isenberg (ed). Clinical Microbiology Procedures Handbook, American Society for Microbiology, Washington D.C.,1992, bölüm 1.7, s:1-11.
- Campos JM, McNamara AM, Howard BJ. Specimen collection and processing. Ed: Howard BJ. Clinical and Pathogenic Microbiology, St Louis: Mosby, 1994:213-42.
- Krumholz HM, Cummings S, York M. Blood culture phlebotomy: Switching needles does not prevent contamination. Ann Intern Med 1990;113:290-2.
- Li J, Plorde JL, Carlson LG. Effects of Volume and Periodicity on Blood Cultures. J Clin Microbiol 1994; 32:2829-31.
- Roberts FJ. The value of the second blood culture. J Infect Dis 1993;168:795-6.
- Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, et al. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. Rev Infect Dis 1983;5:35-53.
- Mermel LA, Maki DG. Detection of Bacteremia in Adults: Consequences of Culturing an Inadequate Volume of Blood. Ann Intern Med 1993;19:270-2.
- Weinstein MP. Clinical importance of blood cultures. Clinics in Laboratory Medicine 1994;14:9-16.
- Washington JA II, Ilstrup DM. Blood cultures: Issues and controversies. Rev Infect Dis 1986;8:792-802.
- Bishburg E, Eng RH, Smith SM, et al. Yield of bone marrow culture in the diagnosis of infectious diseases in patients with acquired immunodeficiency syndrome. J Clin Microbiol 1986;24:312-4.
- Eng RH, Bishburg E, Smith SM, et al. Diagnosis of Mycobacterium bacteremia in patients with acquired immunodeficiency syndrome by direct examination of blood films. J Clin Microbiol 1989;27:768-9.
- Maki DG, Weise MS, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. N Engl J Med 1977;296:1305-9.

16. Henderson DK. Bacteremia due to percutaneous intra-vascular devices. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, Fourth ed. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2587-99.
17. Raad I, Costerton W, Sabharwal U, et al. Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheters: A quantitative relationship between luminal colonization and duration of placement. *J Infect Dis* 1993;168:400-7.
18. Reimer L. Evaluation of modified trypticase soy broth versus supplemented peptone broth in the detection of bacteremia and fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988;7:384-7.
19. Murray PR, Spizzo AW, Niles AC. Clinical comparison of the recoveries of bloodstream pathogens in septi-Chek brain-heart infusion broth with saponin, Septi-Chek tryptic soy broth, and the Isolator lysis-centrifugation system. *J Clin Microbiol* 1991;29:901-5.
20. Wilson ML, Weinstein MP, Reller LB. Automated blood culture systems. *Clinics in Laboratory Medicine* 1994; 14:149-69.
21. Bilgehan H. Kanın Mikrobiyolojik İncelenmesi. Ed: Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. İzmir: Fakùlteler Kitabevi, 1992:289-97.
22. Reik HR, Rubin SJ. Evaluation of the buffy-coat smear for rapid detection of bacteremia. *JAMA* 1981; 245:357-9.
23. Torlakoviç E, Hibbs JR, Miller JS, Litz CE. Intracellular bacteria in blood smears in patients with central venous catheters. *Arch Intern Med* 1995;155:1547-50.
24. Moonens F, Alami S, Gossum A, Struelens MJ, Serruys E. Usefulness of Gram Staining of Blood Collected from Total Parenteral Nutrition Catheter for Rapid Diagnosis of Catheter-Related Sepsis. *J Clin Microbiol* 1994; 32:1578-9.
25. Khatip R, Riederer KM, Clark JA, Khatip S, Briski LE, Wilson FM. Coagulase-Negative Staphylococci in Multiple Blood Cultures: Strain Relatedness and Determinants of Same-Strain Bacteremia. *J Clin Microbiol* 1995; 33:816-20.
26. Weinstein MP, Murphy JR, 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
27. McGowan JE. Septicemia: Changing patterns of causative organisms and underlying conditions. Shanson DC (ed). *Septicemia and endocarditis: Clinical and Microbiological Aspects*, Oxford: Oxford University Press, 1989 5-48.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Halis AKALIN

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakùltesi

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve İnfeksiyon

Hastalıkları Kliniğı

BURSA

Makalenin Geliş Tarihi: 28.02.1997 Kabul Tarihi: 13.08.1997