

Febril Nötropenik Hastalarda Bakteriyel Enfeksiyonların Tanısında Kan Kültürlerinin Önemi ve Özellikleri

Dr. Özay Arıkan Akan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbni Sina Hastanesi Merkez Laboratuvarları, Ankara

Bakteriyel enfeksiyonlar nötropenik hastalarda en sık rastlanan enfeksiyonlardır. Febril nötropenik hasta grubunda erken başlanan antimikrobiyal tedavinin prognozu doğrudan etkilediği iyi bilinen bir konu olduğundan, gerek ampirik olarak gerekse klinik veya mikrobiyolojik olarak dokümanite edilmiş enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibiyotik protokolleri bu hastalarla uğraşan tüm merkezlerde yaygın olarak kabul görmüştür. Febril nötropenik hastalarda ateşin çıktığı gözleendiğinde hiç vakit kaybetmeden kültürler alınmalı ve tedaviye başlanmalıdır. Tüm kültürler itina ile alınmalı ve laboratuvara gönderilmelidir. Bakteriyolojik tanı (spesifik bazı enfeksiyon etkenleri dışında) ilerleyen teknoloji doğrultusunda geliştirilmiş yeni tanı yöntemleri ve özellikle moleküler yöntemler rutin uygulamalarda henüz altın standart dediğimiz “mikroskopi ve kültür”ün önüne geçememiştir.

Febril nötropenik hasta grubunda mikrobiyolojik yaklaşımın bazı özellikleri vardır. Normal konakta hastalığa neden olmayan virülansı düşük ve hatta hastanın normal florasında bulunan bakterilerin de enfeksiyonlara yol açması nedeniyle kültürler alınırken çok dikkatli ve bilinçli olmalı, flora kontaminasyonundan kaçınılmalıdır.

Antibiyotiklere dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar gibi bu hastalarda da önem kazanmış ve mikrobiyolojik yaklaşımların önemini bir kez daha karşımıza çıkarmıştır. Rutin uygulamalarda günümüzde en çok üzerinde tartışılan konulardan bir tanesi de antibiyotik duyarlılık testleri uygulamalarıdır. Antibiyotik duyarlılık testlerinin standardizasyonunda ülkemizde veya dünyada kabul görmüş yöntemlerin bazı dirençli bakterileri tespit etmedeki yetersizliği, yeni kullanıma sokulan sistemlerin bazı durumlarda hatalı dirençli veya duyarlı sonuçlar vermesi bu gün bakteriyoloji dünyasının en sık uğraştığı konular arasındadır ve laboratuvar pratiği bu açılardan giderek zorlaşmaktadır.

Bir yandan ilerlemeler gözlenirken öte yandan ne yazık ki hala hastanelerimizde laboratuvarların kullanıma şeklinin yeterince bilinçli olmaması bir sorun olarak yaşanmaktadır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının uğraştığı en önemli ve hayati testlerden bir tanesi kan kültürleridir. Günümüzde otomatize sistemlerin kullanıldığı ileri teknoloji yardımıyla bu kültürleri izlenme şansı mevcuttur ama unutulmamalıdır ki tüm laboratuvar uygulamalarında olduğu gibi kan kültürlerinde de başarı önce doğru numunenin laboratuvara gönderilmesi ile klinisyenlere düşmektedir.

Örnek alımında nelere dikkat edilmelidir?

- doğru yerden
- doğru zamanda
- doğru teknikle
- yeterli miktarda örnek alınmalı ve
- laboratuvara doğru koşullarda ulaştırılmalıdır.

Febril nötropenik hastada ateş çıkar çıkmaz zaman kaybetmeden en az iki ayrı venden eş zamanlı olarak kan kültürü alınmalıdır. En sık antekübital venler kullanılır. Eğer hastada intravenöz kateter varsa antekübital vene ek olarak kateterden de kan kültürü alınır. Sadece kateterden alınan kan kültürü sonuçları yanlış yönlendirmelere yol açacağından mutlaka damardan da alınmalıdır. Bu hastalarda cilt flora bakterilerinin bakteriyemi etkeni olarak karşımıza çıkması nedeniyle ciltten ya da ortamdan kontaminasyonun engellenmesi için alım tekniği çok önemlidir. Kanı alacak kişi kendini kanla bulaşan enfeksiyonlardan korumak için eldiven giymelidir. Önce kanın alınacağı bölge %70 lik etil veya isopropil alkol ile silindikten sonra 30 sn beklenir. Daha sonra tercihen iyot ile silinerek bir dakika süre ile beklenir. Silme işlemleri merkezden çevreye doğru yuvarlaklar çizerek yapılır. Daha sonra kapalı sistem vakum iğnesi veya enjektör yardımıyla kan alınır. Damar üzeri ve çevresi silindikten sonra tekrar palpe edilmez. Palpe edilecekse bile parmak uçları tekrar dezenfektanlarla silinmiş olmalıdır. Kan kültürü şişeleri hasta başında hazır olmalıdır. Hangi şişe cinsi uygunsa o kullanılır. Şişelerin kullanmadan önce nerede bekletileceği üzerinde not edilmiştir. Kan şişelerin içine konmadan şişelerin ağzı alkol ile silinmelidir. Ticari şişelerin üzerinde aerobik, anaerobik, mantar, erişkin veya pediatrik olduğuna dair not bulunur.

Üremeyi etkileyen en önemli faktörlerden bir tanesi de alınan kan miktarıdır. Kanın içerisinde bazı inhibitör maddeler vardır bu yüzden besiyeri kan oranı önemlidir. Kan kültürü şişelerinde 1:4 veya 1:10 oranında kan besiyeri oranı kabul edilebilir oranlardır. Ticari olarak kullanılan şişelerde her şişe başına alınacak miktar optimum 8-10 ml'dir. Her seferde en az iki set kan alınmalıdır. Tek kan kültürünün alınması bakteriyemi etkenlerinin saptanmasında yetersiz kalacaktır. Pozitiflik tespit edildiğinde özellikle koagülaz negatif stafilokok yada difteroid üremelerinde sonuçların yorumlanmasında sorun yaratır.

Laboratuvara mümkün olduğunca bekletilmeden (beklemesi için gerekli süre oda ısısında geçirilmelidir) ulaştırılması gereken kan kültürü şişeleri mevcut sistemlerin özelliklerine göre muamele edilirler. Amaç kanda bulunan bakterilerin besiyeri içerisinde inkübatör ısısında üretilmesi ve üreyen bakterinin tespit edilmesidir. Bakteri üretilmesi bakteriyeminin gösterilmesinden başka etkenlerin antibiyotik duyarlılık durumunun tespitini mümkün kılar. Mikrobiyoloji laboratuvarlarının en hızlı ve öncelikli davranması gereken durumlardan bir tanesi kan

kültürü üremelerinin tespitidir ve antibiyotik duyarlılık testlerinin doğru olarak uygulanmasıdır. Unutulmamalıdır ki febril nötropenik hastada kan kültürü sonucunu beklemeden ampirik tedavi başlar. Üreyen bakterinin cinsi ve antibiyotik duyarlılık durumu tedavi modifikasyonlarını belirler. Üreme şüphesinde gerek diyaloglar gerekse ön raporlarla kliniklere bir an önce ulaşarak bilgi vermek gerekir.

Kan kültürü için kullanılan yöntemler: Kan kültürü 19.yüzyıldan beri infeksiyon hastalıklarının tanısında kullanılmıştır. Belli başlı sistemleri şöyle sıralayabiliriz;

- 1- Manuel (konvansiyonel) sistemler
- 2- Lisis santrifügasyon sistemi
- 3- Otomatize sürekli izlemeli sistemler

Manuel yöntemlerde laboratuvarda hazırlanmış ya da ticari olarak satılan ağzı kapalı, içerisinde tripticase soy, brain-heart infüzyon ve columbia besiyerleri gibi olası etkenlere en kısa sürede ulaşmak amacıyla kullanacak zengin vasatlar içeren şişeler kullanılır. Bazı şişeler hem sıvı hem de katı kısımları içerir (bifazik). Günlük izlemlerle bulanıklık oluşumu, kanın hemolizi, sıvı yada katı besiyerinde üremelerin gözlenmesi gibi üreme izlemi yapılır. Ayrıca kör pasajlar ile üreme takibi yapılabilir. Ticari olarak satılan bazı şişelerin ağzında günlük inkübasyonları mümkün kılan ek düzenekler (Septicheck (BD)) veya üreme indikatörü olan ek aparatlar (Oxoid) bulunur. İş yoğunluğunun yüksek olduğu laboratuvarlarda tek şişelerin sürekli izlemleri ve pasajları sorun olmaktadır.

Lizis santrifügasyon sistemi ülkemizde talep olmadığından pek kullanılmamış olan bir sistemdir. Kan kültürlerinin alındığı şişelerde kanın erimesini sağlayan maddelerle temasını takiben santrifügasyon yapılır ve agar plaklarına ekilir. Mantar ekimlerinde başarılı olduğu tespit edilmiştir. Erken müdahale edilmezse S.pneumoniae ve Hemofilus türlerini üretmede yetersiz kalmaktadır.

Otomatize sistemler bilgisayar desteği ile farklı üreme indikatörlerinde meydana gelen değişimlerin izlenmesi esasına dayanır. Bu sistemlerde sürekli izleme nedeniyle kan kültürlerindeki pozitifliğin daha erken dönemde saptandığı iddia edilmektedir. Otomatize kan kültürü sistemleri dünyada 3 çeşittir. BacT/Alert (Organon Teknika), BACTEC (BD Biosciences) ve ESP(Trek Diagnostic systems). İlk ikisi ülkemizde pazarlanmaktadır. Yıllar içerisinde adı geçen sistemlerin şişe kapasitesi, üreme indikatörleri ve veritabanları açısından değişik tipleri geliştirilmiş ve değişik modelleri ülkemizde yaygın kullanım alanı bulmuştur. Hazır besiyerlerinin içerisine kanların alınıp belirli ısıdaki inkübatörler içinde ara ara çalkalanarak inkübasyonu ve düzenli olarak üreme kontrolü yoluyla üreyen bakterilerin 24 saat süreyle izlenmesi esasına dayanır. Belirli grup mikroorganizmalar için özel şişeler mevcuttur. Anaeroblar, mantarlar, tüberküloz gibi. Ayrıca pediatrik ve erişkin şişeleri vardır. Bazı şişeler antibiyotiklerin absorpsiyonu sağlayan maddeler içermektedir.

Bu sistemlerde 24 saat süresiyle kısa aralıklarla üreme izlemi yapılır ve üreme tespit edildiği noktada cihaz alarm ile uyarır. Pozitiflik tespit edildiğinde şişelerden laboratuvarın çalışma prensipleri doğrultusunda boyama ve pasajlar yapılır. Bakterilerin tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılık testleri tamamlanır. Otomatize sistemlerin bakterileri üretmekte daha başarılı olduğu ve daha hızlı izolasyon sağladığı belirtilmektedir.

Günümüzde hızlı tanımlama ve iş yükünün azaltılması amacıyla direk olarak kandan bakteriyel etkenlerin tanımlanması ile ilgili araştırmalar yapılmaktaysa da henüz çalışma aşamasındadır. PCR teknikleri kullanılarak nükleik asit amplifikasyonu ile bakteriyemik hastalarda bakterilerin 16SRNA geninin amplifiye edildiği çalışmalar mevcuttur. Moleküler teknikler bu konuda gelecek vaad etmekle birlikte henüz standardizasyonları tam olmadığından rutin uygulamalarda yerini almamıştır.

Kaynaklar

1. Magadia R, Weinstein MP. Laboratory Diagnosis of bacteremia and fungemia. *Infectious Diseases of North America* 2001;15: 1009-1024.
2. Febril nötropeni tanı ve tedavi kılavuzu. Febril Nötropeni Çalışma Frubu 2004, Flora Dergisi (basında)
3. Bille J. Laboratory diagnosis of infections in febrile neutropenic or immunocompromised patients. *Int J Antimicrob Agents* 2000 ;16: 87-89.
4. Wilson ML, Weinstein MP. General principles in the laboratory detection of bacteremia and fungemia. *Clin Lab Med* 1994; 14:69-82.
5. Weinstein MP. Clinical importance of blood cultures. *Clin Lab Med* 1994;14:9-16.
6. Bates DW, Lee H. Rapid classification of positive blood cultures: Prospective validation of multivariate algorithm. *JAMA* 1996; 267:1962.
7. Tancrede CH, Andremonet AO. Bacterial translocation and gram negative bactereemia in patients with haematological malignancies. *J Infect Dis* 1985; 152:99-103.
8. Coullioud D, Van der Auwera P, Viot M, Lasset C. Prospective multisentric study of etiology of 1051 bacteremic episodes in 782 cancer patients. *Support Care Cancer* 1993; 1:34-46.
9. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein M. Update on detection of bacteriemia and fungemia. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:444-465.
10. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC. Winn WC Jr. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997; 121-162.
11. Washington JA. Blood cultures: An overview. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989; 8: 803-807.
12. Washington JA. Collection transport and processing of blood cultures. *Clin lab Med* 1994; 14:59-68.
13. Sleigh JB, Cursons R, La Pine M. Detection of bacteremia in critically ill patients using 16S rDNA polymerase chain reaction and sequencing. *Intensive Care Med* 2001; 8:1269-1273.