

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI



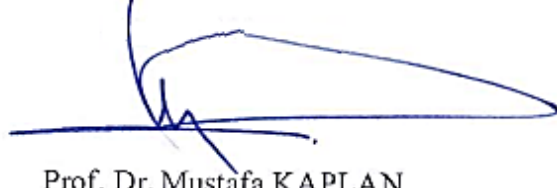
OTOMATİK KAN KÜLTÜRÜ SİSTEMLERİNDE
NEGATİF ÇIKAN KAN KÜLTÜRLERİNİN
İNKÜBASYON SÜRELERİ UZATILARAK HACEK
GRUBU BAKTERİLERİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gülnihal ŞAHİN

ELAZIĞ-2019

ONAY SAYFASI



Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Yusuf YAKUPOĞLULLARI

Prof. Dr. Adnan Seyrek

Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Gülnihal ŞAHİN

Tarih

08/10/2019

İmza

A handwritten signature in blue ink, consisting of several fluid, overlapping strokes.

Danışman
Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN
Anabilim Dalı
ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde ve tezimin hazırlanmasında destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN'a, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mustafa YILMAZ'a, çalışmanın başından beri desteğini ve bilgilerini esirgemeyen Merkez Laboratuvarında görev yapan biricik babam Levent SERT'e, her konuda desteğini esirgemeyen değerli aileme ve her zaman yanımda var olan değerli eşim Orhan Kemal ŞAHİN'e ve tezimin son adımında hayatımıza katılan biricik oğlum Orhan Asaf ŞAHİN'e teşekkürlerimi borç biliyorum.



İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	4
3.1. Genel Bilgiler	4
3.1.1. Kan Kültüründe En Sık İzole Edilen Mikroorganizmalar	6
3.2. Kan Kültürünün Klinik Önemi	7
3.2.1. Kan Kültürlerinin Alınma Endikasyonları	7
3.2.2. Kan kültürlerinin Alınmasında Genel Prensipler	8
3.2.3. Alınacak Kanın Hacmi	9
3.2.4. Kan Kültürü İçin Gerekli Şişe Sayısı	10
3.2.5. İnkübasyon Süresi	11
3.2.6. Pasajlar	12
3.2.7. Kan Kültür Sonuçlarının Klinikte Değerlendirilmesi	12
3.3. Zor Üreyen Mikroorganizmaların Saptanmasında Kullanılan Çeşitli Yöntemler	13

3.3.1. Zor üreyen streptokoklar, <i>Granulicatella</i> türleri, <i>Abiotrophia</i> türleri	14
3.3.2. <i>Bartonella</i>	14
3.3.3. <i>Brucella</i>	14
3.3.4. <i>Campylobacter</i>	14
3.3.5. <i>Francisella tularensis</i>	14
3.3.6. <i>Helicobacter</i>	15
3.3.7. <i>Legionella</i>	15
3.3.8. <i>Leptospira</i>	15
3.3.9. Mantarlar	15
3.3.10. <i>Mycobacterium</i>	16
3.3.11. <i>Mycoplasma</i>	16
3.3.12. <i>HACEK</i> grubu	16
3.3.12.1. <i>Haemophilus</i>	18
3.3.12.1.1. <i>Haemophilus</i> Epidemiyoloji	19
3.3.12.1.2. <i>Haemophilus spp.</i> Tanı	20
3.3.12.2. <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	25
3.3.12.2. 1. <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> Epidemiyoloji	27
3.3.12.2. 2. <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> Tanı	28
3.3.12.3. <i>Cardiobacterium hominis</i>	28
3.3.12.3.1. <i>Cardiobacterium hominis</i> Epidemiyoloji	29
3.3.12.3.2. <i>Cardiobacterium hominis</i> Tanı:	29
3.3.12.4. <i>Eikenella corrodens</i>	30
3.3.12.4.1. <i>Eikenella corrodens</i> Tanı	31
3.3.12.5. <i>Kingella</i>	32

3.3.12.5.1. <i>Kingella</i> Türleri Tanı	34
3.4. <i>HACEK</i> BAKTERİLERİNİN EUCAST Klinik Sınır Değerleri	35
3.4.1. <i>Haemophilus influenzae</i>	35
3.4.2. <i>Aggregatibacter spp.</i>	38
3.4.3. <i>Cardiobacterium hominis</i>	40
3.4.4. <i>Eikenella corrodens</i>	40
3.4.5. <i>Kingella kingae</i>	41
4. GEREÇ ve YÖNTEM	44
4.1. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	44
4.2. Yöntem	45
5. BULGULAR	47
6. TARTIŞMA	52
7. SONUÇ	62
8. KAYNAKLAR	63
9. ÖZGEÇMİŞ	72

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. <i>Haemophilus influenzae</i> için penisilin grubu	36
Tablo 2. <i>Haemophilus influenzae</i> için sefalosporinler	36
Tablo 3. <i>Haemophilus influenzae</i> için tetrasiklinler	37
Tablo 4. <i>Haemophilus influenzae</i> için florokinolonlar	37
Tablo 5. <i>Haemophilus influenzae</i> için karbapenemler	37
Tablo 6. <i>Haemophilus influenzae</i> için diğer antibiyotikler	38
Tablo 7. <i>Aggregatibacter spp.</i> için karbapenemler	39
Tablo 8. <i>Aggregatibacter spp.</i> için florokinolonlar	39
Tablo 9. <i>Aggregatibacter spp.</i> için aminoglikozidler	39
Tablo 10. <i>Cardiobacterium hominis</i> için antibiyotik grubu	40
Tablo 11. <i>Eikenella corrodens</i> için antibiyotik grubu	40
Tablo 12. <i>Kingella kingae</i> için sefalosporinler	42
Tablo 13. <i>Kingella kingae</i> için karbapenemler	42
Tablo 15. <i>Kingella kingae</i> için makrolidler ve linkozamidler	43
Tablo 16. <i>Kingella kingae</i> için tetrasiklinler	43
Tablo 17. <i>Kingella kingae</i> için çeşitli antibiyotikler	43
Tablo 18. 500 kan kültürünün üreme sonuçları.	47
Tablo 19. Kültür de üreyen mikroorganizmaların cinsiyet, yaş, klinik ve kan kültürü şişesi tipine göre dağılımları.	48
Tablo 20. <i>Kingella kingae</i> 'nin antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	49
Tablo 21. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	50
Tablo 22. <i>Candida glabrata</i> 'nın antifungal duyarlılık testi sonucu	50
Tablo 23. <i>Staphylococcus epidermidis</i> 'in antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	51
Tablo 24. <i>Escherichia coli</i> 'nin antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	51

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. <i>HACEK</i> grubu bakterilerin EE nedeni olma sıklıkları	17
Şekil 2. <i>Haemophilus influenzae</i> 'nin Gram'la boyanma mikroskopik görüntüsü (A), <i>H.aegyptius</i> (B), ve <i>H.influenzae</i> biyogrup. <i>aegyptius</i> (C) kokobasil ve filamentöz yapısı	23
Şekil 3. <i>Haemophilus</i> izolatlarının, at kanlı agarda, bir çizgi boyunca üremiş <i>S.aureus</i> etrafında üreyen kolonisi	23
Şekil 4. <i>Aggregatibacter actinomycetomcomitans</i> kanlı ve çukulatamsı agardaki kolonilerinin görünümü	26
Şekil 5. <i>Aggregatibacter actinomycetomcomitans</i> çukulatamsı agardaki kolonisinin görünümü.	26
Şekil 6. <i>Cardiobacterium hominis</i> 'in Gram boyanma mikroskopik ve kanlı agardaki koloni görünümü	29
Şekil 7. <i>Eikenella corrodens</i> 'in çikolatamsı ve kanlı agardaki koloni görüntüleri	30
Şekil 8. (A) <i>Eikenella corrodens</i> (Gram boyama); (B) <i>Kingella kingae</i> 'nin Gram preparatlarının mikroskopik görüntüleri.	32
Şekil 9. <i>Kingella kingae</i> 'nin kanlı ve çukolatamsı agardaki koloni görüntüleri.	33
Şekil 10. 500 kan kültürünün üreme sonuçlarının grafik olarak dağılımları	48
Şekil 11. <i>Kingella kigae</i> 'nin %5 koyun kanlı Colombia agardaki koloni görünümü	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Bileşik Devleti
BCYE	: Buffered charcoal yeast extract
BROTH	: Sıvı besiyeri
ÇA	: Çukolotamsı agar
EE	: Enfektif endokardid
ELİSA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay testi
EMB	: Eozin-metilen mavisi agar
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
HACEK	: <i>Haemophilus</i> , <i>Aggregatibacter</i> , <i>Cardiobacterium</i> , <i>Eikenella</i> , <i>Kingella</i>
KA	: Kanlı agar
KNS	: Koagülaz negatif stafilokok
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
SDA	: Sabouraud dekstroza agar
TSA	: Triptik soya agar
β-LNAR	: β-laktamaz negatif ampisilin dirençli

1. ÖZET

Kanda herhangi bir enfeksiyon etkeninin bulunup bulunmadığını saptamak için yapılan teste kan kültürü denir. Kan kültürünün amacı, kanda hangi tür de mantar veya bakteri bulunduğunu tespit etmektir. Bu yöntem özellikle menenjit, osteomyelit, artrit, endokardit, peritonit, zatürre ve nedeni bilinmeyen ateş gibi hastalıkların tanısında kullanılır. Kanda bulunan enfeksiyon; titreme, düşük veya yüksek ateş, hızlı nefes alma, artan nabız veya çarpıntı, kas ağrıları ile kendini göstermektedir. Bu sepsis sonucu zihinde bulanıklık, azalmış idrar, baş dönmesi, baş ağrısı, ciltte döküntü ve hatta organ yetmezliğine kadar ilerleyen olaylar meydana gelebilir. Bu bulguların bulunduğu hastanın tedavi edilebilmesi için tanının doğru ve hızlı bir şekilde tesbit edilmesi gerekir. Bu tanıyı koymak için, zaman kaybetmeden hekimler kan kültürü istemi yapması zorunludur. Zamanında ve uygun şartlarda alınan kan kültürlerinin hızlı bir şekilde raporlanmasıyla, sepsis tanısı koyulan hastanın tedavisi yönlendirilir ve hastanın hayatta kalması sağlanır. Bu nedenle kanın rol oynadığı enfeksiyonlarının saptanmasında, kan kültürü en önemli ve kolay bir yöntemdir. Kan kültürü yöntemi bakteriyel veya fungal mikroorganizmaların saptanması sağlar. Aynı zamanda tespit edilen patojenlerin antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesine avantaj sağlar.

Çalışmamızda, standart kan kültürü yöntemlerinde negatif sonuç için belirlediği 5 günlük inkübasyon süresi uzatılarak; *Haemophilus* spp., *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* ve *Kingella* spp. (HACEK) gibi zor üreyen bakterileri tespit edilmesi amaçlanmıştır. Fırat Üniversitesi Hastanesi çeşitli kliniklerinde yatan hastalardan Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen 500 aerob ve/veya anerob kan kültürü şişesi, otomatik kan kültürü cihazına (BD, Bactec Fx, USA) yüklendi. Kan kültürü şişelerinin otomatik

kan kültürü cihazına yüklenmesinden sonra cihazın inkübasyon döneminde standart pozitif sinyal verme süresi olan beş (5) günün sonunda negatif olarak sonuçlanan 500 aerop ve/veya anaerop kan kültürü şişesi HACEK grubu bakteriler yönünden değerlendirmeye alındı. Negatif kan kültür şişelerinden preparatları hazırlanarak Gram boyamaları yapıldı. Gram boyama sonucuna göre bakteri saptanmayan kan kültür şişeleri 35-37°C de etüvde 72 saat ek bir inkübasyon süresine tabi tutuldu. Bu süre sonunda kan kültürlerinin beş (5) (%1)'inde örnekte üreme saptanırken 495'inde (%99) üreme saptanamadı. Üreme saptanan beş örnekte birer tane olmak üzere; *Kingella kingae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermitidis*, *Candida glabrata* üredi. Bu sonuç standart klavuzlarda belirlenen 5 günlük üreme süresinin bazı durumlarda (zor üreyen bakteriler, kandaki mikroorganizma miktarının azlığı v.s. gibi nedenlere bağlı olarak) yetersiz olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla negatif sonuç için belirlenen inkübasyon süresinin yeniden gözden geçirilmesi için uzun çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: HACEK, Kan kültürü

2. ABSTRACT

INVESTIGATION OF HACEK GROUP BACTERIA BY INCREASING THE INCUBATION TIMES OF NEGATIVE BLOOD CULTURES IN AUTOMATIC BLOOD CULTURE SYSTEMS

A blood test to determine whether there is an infection agent in the blood is called blood culture. The purpose of blood culture is to determine which types of fungi or bacteria are present in the blood. This method is especially used in the diagnosis of diseases such as meningitis, osteomyelitis, arthritis, endocarditis, peritonitis, pneumonia and unknown cause fever. Infection in the blood; tremors, low or high fever, rapid breathing, increased pulse or palpitations, Novartis manifests itself with. As a result of this sepsis may occur events that progress to confusion in the mind, decreased urine, dizziness, headache, skin rash and even organ failure. Of these findings resides in a fast and accurate way of diagnosis for the patient's treatment must be determined. To make this diagnosis, it is imperative that physicians prompt blood culture without wasting time. With the rapid reporting of blood cultures taken in timely and appropriate conditions, the treatment of the patient diagnosed with sepsis is directed and the patient's survival is ensured. For this reason, blood culture is the most important and easy method for detecting infections in which blood plays a role. The blood culture method ensures the detection of bacterial or fungal microorganisms. It also provides an advantage to the determination of antimicrobial susceptibility of detected pathogens.

In our study, the incubation period of 5 days determined for the negative result in standard blood culture methods was extended; *Haemophilus* spp., *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* and *Kingella* spp. It is intended to detect difficult-to-reproduce bacteria such as HACEK. 500 aerop

and/or anerop blood culture bottles were loaded into an automated blood culture device (BD, Bactec Fx, USA) from patients in various clinics of Euphrates University Hospital to Microbiology Laboratory. After loading blood culture bottles into the automotic blood culture device, 500 aerop and/or anaerop blood culture bottles were evaluated in terms of HACEK group bacteria, resulting in negative results at the end of five (5) days of Standard positive signaling period during the incubation period. Gram staining was done by preparing preparations from negative blood culture bottles. According to Gram staining results, blood culture bottles with no bacteria were subjected to an additional incubation period of 72 hours at 35-37°C etludve. At the end of this period, reproduction was detected in five (5) (1%) of blood cultures, while reproduction was not detected in 495 (99%). One in five specimens with reproduction; *Kingella kingae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermitidis*, *Candida glabrata* were produced. This result is determined in the standard guidelines 5 days of reproduction period in some cases (difficult to reproduce bacteria, lack of the amount of microorganisms in the blood v.P. depending on such reasons) indicate that it is inadequate. Therefore, long studies are needed to reconsider the incubation period determined for the negative result.

Keywords: HACEK, Blood cult

3. GİRİŞ

3.1. Genel Bilgiler

Sepsis veya septik şok bazı mikroorganizmalara ait toksik ürünlerin kan dolaşımı ile yayılması sonucu gelişen ve çok ciddi sonuçlara yol açan klinik bir tablodur. Sepsisin klinik özellik ve bulguları, konağın immün sistemi ile mikroorganizma ve ürünleri arasındaki çatışmanın bir sonucudur. Sepsis konağın immün, inflamatuvar ve endokrin sistemlerini uyarır ve bu uyarılara cevap klinik seyri belirler (1).

Varlığı antik çağlara kadar dayanan sepsisin geçmiş tarihlerden günümüze kadar insanlarda ölüm sebeplerinin başında gelmektedir. Sepsis, Yunanca “çürüme, kokuşma” anlamına gelen “sepo” kökünden gelir ve eski zamanlardan beri bakterilerin varlığında organik maddelerin, bitki ve hayvan kalıntılarının çürümesi anlamında kullanılmıştır (2).

Sepsis terimi kaynaklara göre ilk kez günümüzden 2700 yıl önce, Homeric’in şiirlerinde görülmektedir. M.Ö. 400 yıllarında yaşamış büyük filozof ve hekim olan Hippocrates, Corpus Hippocraticum adlı kitabında sepsis teriminden bahsetmiş ve sepsisi vücudun tehlikeli ve korkutucu biçimde biyolojik çöküşü olarak tanımlamıştır (2,3).

Yunan asıllı hekim ve filozof olan Galen (M.S. 129-199) sepsis teorisi hakkındaki çalışmaları ile tanınan önemli bir şahsiyettir. Hieronymus ve Anthony van Leeuwenhoek (1632–1723) ise mikroorganizmaların birçok hastalığın nedeni olduğunu savunarak germ teorisinin gelişmesine imkân vermiştir. Ignaz Semmelweis 19.yüzyılda sadece el yıkama ile puerperal sepsis oranını %3’ün altına indirdiğini kanıtlamıştır (4,5).

Sepsis; retiküloendotelyal sistemin mikroorganizmaları ortadan kaldırabileceği kapasiteninde üstünde olan mikroorganizmaların varlığı sonucunda oluşan hastalıktır. Sepsis görülen hastaların sayısı tüm dünyada hızla çoğalmaktadır (6).

Sepsise bağlı morbiditenin ve mortalite çok yüksek olması nedeniyle hastanın tedavisi sırasında doğru tanı önemli kriterdir. Bu sebeple altın standart olarak uygulanması gereken ilk test “Kan Kültürü”dür (6).

Kan kültürünün geliştirilmesi için binlerce çalışma yapılmış ve bu çalışmaların neticesin de patojenlerin hızlı tesbiti için en kullanışlı besiyeri ve ortamların geliştirilmesi sağlanmıştır. Günümüzde de hızlı tanı için nükleik asit problemleri ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi çeşitli moleküler yöntemler kullanılması ve geliştirilmiş olmasına rağmen, altın standart olarak en güvenilir yöntem kan kültürüdür (6).

Kan kültürü sistemlerinin içindeki besiyerindeki zenginlikleri nedeniyle olası patojenlerin büyük kısmını üretme özelliğine sahiptir, bu da üreme süresinin kısalması ve üremenin saptanması açısından oldukça önemlidir. Örnek uygun şişelere uygun koşullarda alındığı takdirde anaerobik, aerobik, fungal ve mikobakteriyel etkenler kolaylıkla tesbit edilebilmektedir. Kan kültürü için kanın doğru zamanda alınmaması, hastada enfeksiyonun varlığı, kanın miktarı veya hastanın antibiyotik tedavisi alıyor olması gibi nedenler pozitif sonuç çıkmasını etkilemektedir. Yapılan kültürlerde pozitifliliğinin tamamına yakını gerçek kan dolaşımı enfeksiyonlarına bağlıdır (6).

Laboratuvarlarda kan kültürü uygulamasında patojen etkenlerin hızlıca tesbit edilmesi, mikroorganizmaların doğru izole edilmesi, çıkan sonuçların doğru bir şekilde yorumlanması ve yapılacak olan antibiyotik duyarlılık testlerinin doğru uygulanması tüm klinik mikrobiyoloji laboratuvarının en önemli kriterlerindendir (6).

3.1.1. Kan Kùltüründe En Sık İzole Edilen Mikroorganizmalar

a. Gram Pozitif Bakteriler:

- *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*),
- *Viridans streptokoklar*,
- *Streptococcus pneumoniae* (*S.pneumoniae*),
- *Streptococcus pyogenes* (*S.pyogenes*),
- *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*),
- *Clostridium perfringens* (*C.perfringens*),
- *Anaerobik streptokoklar*.

b. Gram Negatif Bakteriler:

- *Salmonella typhi* (*S.typhi*),
- *Diğer Salmonella serovarlari*,
- *Brucella spp.*,
- *Haemophilus influenzae* (*H.influenzae*),
- *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*),
- *Klebsiella spp.*,
- *Escherichia coli* (*E.coli*),
- *Proteus spp.*,
- *Bacteroides fragilis* (*B.fragilis*),
- *Neisseria meningitidis* (*N.meningitidis*),
- *Yersinia pestis* (*Y.pestis*).

c. Mantarlar:

- *Candida albicans*,
- *Diğer Candida türleri*,

- *Cryptococcus neoformans* (*C.neoformans*),
- *Histoplasma capsulatum* (*H.capsulatum*).

3.2. Kan Kültürünün Klinik Önemi

Günümüzde tıbbi teknolojiye ve uygulamalardaki gelişmelerin hızla artıyor olmasına rağmen, buna paralel olarak enfeksiyon riskini de gün geçtikçe arttığı gerçeğini değiştirmemektedir. Yaşlılık oranının artıyor olması, kronik hastalığı olanların yaşam kalitelerinin düşmesi, bağışıklığı baskılayan ilaçların yaygın uygulanması ve tanı için cerrahi girişimlerdeki artış enfeksiyon riskinin de artışına neden olmuştur (7).

Günümüzde tanı yöntemlerinde uygulanan güncel çalışmalara rağmen sepsis ve bakteremi tesbitinde kan kültürü yöntemi halen tek güvenilir ve pratik yöntem olma özelliğini korumaktadır. Kan kültürü tanı açısından kandaki mikroorganizmaların saptanması önemli olduğu gibi hastanın tedavisi ve hastalığın seyiri bakımından da oldukça önemlidir. Kan kültürü pozitif çıkan hastalarda mortalitenin, kan kültüründe negatif çıkanlara oranla 12 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır (8,9).

Enfeksiyonların hızlı tesbit edilmesi ve doğru tedavi yönteminin bulunması hastanın klinik seyiri açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle kan kültürleri şüpheli enfeksiyon hastalıklarında mikrobiyal patojenleri tesbit ettiği gibi, tedavinin kararlaştırılmasında önemli etkidir (10,11).

3.2.1. Kan Kültürlerinin Alınma Endikasyonları

- Sepsisin klinik bulguları,
- Klinik olarak bakteriyemi, fungemi şüphesi,
- Zatürre,
- Orijini bilinmeyen ateşler,

- Nötropeni varlığı,
- Ateş, immün yetersizlik,
- Yurtdışı seyahatleri,
- Enfektif endokardit şüphesi,
- Açıklanamayan lökositoz veya lökopeni,
- Menenjit, deliryum tanısı,
- Sistemik veya lokalize enfeksiyonların varlığı,
- Kateter enfeksiyonu tanısı,
- Osteomyelit, septik artrit (12).

3.2.2. Kan kültürlerinin Alınmasında Genel Prensipler

Kanda bulunan mikroorganizmaların varlığı neticesinde 30-90 dakika arasında oluşan döküntü ve ateş gibi septomlar gözlemlenir ve ateşin daha çok yükseldiği zaman mikroorganizmaların kanda bulunma oranı çok azalır. Kültür için alınacak kanın en uygun zamanı ateşli ve döküntü gibi bulguların ortaya çıkmasından yaklaşık 30-60 dakika öncesidir. Uygulamada en uygunu septomların ve ateşin ortaya çıktığı zaman hemen kültürlerin alınmasıdır. Fungemi veya bakteriyemi şüphesinde erişkinlerden ayrı venlerden 2 set kan alınırken çocuklardan iki veya 1 set kan kültürü alınmalıdır. Sepsis durumunda ise kan kültürü antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır (6).

Kan alındıktan sonra zamanlama çok önemlidir. Ayrıca ortamın sıcaklığı ve uygun şekilde laboratuvara ulaştırılması oldukça önemli kriterlerdendir. Alınan kan örnekleri laboratuvara mümkün olduğunca hızlı ulaştırılmalı bu süre iki saati geçmemelidir. Gelen örneklerin hemen kaydı yapılarak etüve veya otomatik cihazın inkübatörüne yerleştirilmelidir. Otomatik cihazlar kan kültürlerindeki üremeyi her

aşamada izole edebilseler bile, dış ortamda iki saatten fazla bekletilmiş kan kültürü şişelerinde pozitif sinyal saptanmasında geçikme yaşanabilmektedir. Kültür yapılacak kan kültürü şişeleri buzdolabında veya soğuk bir ortamda muhafaza edilmelidir. Şişeler laboratuvara ulaştırılincaya kadar oda ısısında 35-37°C aralığında bekletilmelidir. Sıcaklığın 37°C'den yüksek olmamasına dikkat edilmelidir. Kan kültürü şişelerini birbirine çarpmadan taşımak için özel taşıyıcı sistemlerle laboratuvara ulaştırılmalıdır. Şişeler elle taşınmamalıdır (6).

3.2.3. Alınacak Kanın Hacmi

Kan kültürü için alınacak kanın hacmi çok önemlidir. Çünkü bu miktar ile patojen mikroorganizmaların tesbiti arasında paralel bir ilişki vardır. Kan kültürü için kan alınacağı zaman hasta açısından bazı kriterler vardır. Kan alınacak hastanın kilosu ve yaşı bu kriterlerden birkaçıdır (13).

Çocuk hastalardan ve erişkin hastalardan alınması gereken kan miktarı farklı olduğu gibi bu miktar yeni doğanlarda daha azdır. Yeni doğanlarda bağışıklık sistemi gelişmediğinden kanda çok fazla miktarda bakteri mevcuttur ve bu bulunan bakteri sayısı erişkinlerden daha fazladır (6, 13).

Kan kültüründen mikroorganizmaların tesbit edilmesindeki en önemli değişken alınan kan hacmidir. Bu nedenle mikroorganizmayı yakalayabilmek için yeterli hacimde kan alınmasına dikkat edilmelidir (13).

Kan alınırken üretici firmanın önerisine göre hareket edilmelidir. Yetişkin hastalardan en çok 30 ml miktarında kan alınması önerilmektedir. Çocuk hastalarda bakteriyemi daha ağır olduğundan kanlarında bulunan bakteri miktarı yetişkinlere oranla daha yüksektir. Hastanın yaşına bağlı olarak kan miktarı düşürülmelidir. Yaklaşık olarak şişelerin herbiri için 0.5-5ml miktarında kan alınması önerilir.

Buradaki amaç kanda bulunanan komplemanlar, fagositler ve antibiyotikler gibi antimikrobiyal ajanların etkilerini düşürmektir (13).

3.2.4. Kan Kültürü İçin Gerekli Şişe Sayısı

Erişkin hastalarda farklı damarlardan alınmış en fazla 3 set şişe kullanılır. Kan kültürleri için kullanılan şişelerin sayısı önemlidir. Çünkü şişe sayısının artması ile mikroorganizmaların izole edilme oranları da artmaktadır. Örneğin; Endokardit tanısı konulanlardan 1 set kan kültürü yapıldığında hassasiyet oranı %80 iken, iki veya üç kan kültürü yapıldığında hassasiyet oranı %80 ile %99'a kadar ulaşabilmektedir. Bu sebeple 1 günde 4 şişeden fazla kan kültür seti kullanılması öngörülmemektedir. Çeşitli araştırmalarda 2 kan kültür seti kullanıldığında duyarlılığın %99 olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden üçden fazla kan kültür şişesinin uygulanması patojenin izole edilmesini arttırmadığından, kültür maliyetinin artmasına ve anemiye de sebep olabileceğinden tavsiye edilmemektedir (14,15,16,17,18,19).

Endokarditli hastalardan kültür yapılacağı zaman alınan 2 kan kültüründe minimum süre hakkında kesin bir bilgi olmamakla beraber bu hastalar için tavsiye edilen en uygun süre 1 günde en az 2 veya 3 tane kan kültürü seti kullanılmalıdır. Sepsis şüphesi olan hastalardan farklı venlerden 2 set kan kültür yapılması gerekir. Erişkin hastalarda ise aerop ve anaerop şişe için şişelere 5-10 ml civarında kan alınmalıdır. Erişkin olmayan hastalarda da hastaların ağırlığına göre farklılık göstermekle birlikte bir set kan kültürü uygundur. Kalp kapakçığı enfeksiyonu şüphesinde, antibiyotik kullanılmadan önce 3 ayrı bölgeden en az 2 set kan kültürü uygulanması tavsiye edilir. Nedeni bilinmeyen ateşte ise 2 veya 4 set ayrı venlerden kan alınmalıdır. İki üç günden sonra sonuç negatif ise 2 veya 3 set daha kan alınması uygun olacaktır. Üst solunum yolu enfeksiyonu kuşkusu görülmeyenlerde birgün

içinde ayrı venlerden 2 ile 4 set arasında kan alınması daha uygun olacaktır. Ateşli havalelerde ise 2 ayrı damardan 2 set kan alınması yeterli olacaktır (16).

Bakteriyemili hastadaki mikroorganizmanın tespiti için her bir kan kültürü seti için alınan kan miktarı, çok önemlidir. Manuel kan kültürü sistemi ve erken nesil yarı otomatize kan kültürü sistemlerinin kullanıldığında araştırmalar, alınan kan kültürü miktarı ile tanı arasında yakın ilişki olduğunu göstermiştir (20,21).

Anaerop şişe çocuk hastalarda kullanılmamaktadır. Bazı kritik durumlarda yeni doğanlarda erken doğum olduğunda anaerop kültür yapılması gerekir. Mantarların kan dolaşımına geçmesi şüphesinde, sürekli kullanılan aerop şişelerinin yanında birde mantarların daha pratik tesbitini sağlayan besiyerleri kullanılır (6). Otomatize sistemde negatif çıkmış kan kültüründe klinik olarak sepsis veya fungemi şüphesi varsa 24 saatden sonra tekrar bir set kan kültürü alınıp değerlendirilmelidir. Buna rağmen halen negatif ise *Haemophilus spp.*, *Aggregatibacter spp.*, *Cardiobacterium spp.*, *Eikenella spp.*, *Kingella spp.* (HACEK) gibi zor üreyen mikroorganizmaların üzerinde durulmalıdır (13).

3.2.5. İnkübasyon Süresi

Labarutavarlarda yaygın olarak kullanılan otomatize kan kültürü cihazlarında hastalığa sebep olan mikroorganizmaların çoğunluğu bir iki gün içinde gözlemlenebilir. Pozitif çıkanların büyük bir çoğunluğu %90'a yakını ise ilk 10-30 saat arasında tesbit edilebilmektedir (13).

Otomatize kan kültürü cihazlarında enterobakteriler, Gram pozitif koklar, psödomonaslar ve kandidaların büyük çoğunluğu inkübasyona bırakıldıktan sonra 7 günde izole edilebilirler. Klinisyenler 7 günlük inkübasyon süresinde negatif olan ve infektif endokardit düşündükleri vakalarda inkübasyon süresinin uzatılmasını

isteyebilirler. Özellikle HACEK grubu zor üreyen ve nadir görülen Gram negatif basilleri 7. günden sonra rutin sub kültürleri yapılarak HACEK'lerin hemen hepsi yakalanmaktadır (13).

3.2.6. Pasajlar

Genellikle geleneksel manuel kan kültürü işlemi, bir gecelik inkübasyon süresi sonunda ve kültürün negatif olduğu durumda, Gram boyaması ve aerobik kültür şişelerinin kör pasajını gerektirir. Bunun dışındaki anaerobik kültür şişelerinin ve cihazlı sistemlerdeki bütün şişelerin kör pasajı gereksizdir (22).

3.2.7. Kan Kültür Sonuçlarının Klinikte Değerlendirilmesi

Pozitif çıkan kan kültürlerinin hepsi klinikte çok da anlam ifade etmez. Düşük şartlarda az oranda kontaminasyon olması normaldir (23).

Kontaminasyona neden olan bakteriyi ayırmak için aşağıdaki kriterlere dikkat edilmelidir. Buunu için:

- Mikroorganizmanın cinsi,
- Klinikle olan iletişim,
- Üreme süresi,
- Üreme olmayan kan kültür sayısı
- Birçok deri florasına ait mikroorganizmanın varlığı,
- Kan kültürünün etkili antibiyoterapi sırasında alınıp alınmadığı,
- Kaç şişe kan kültüründe ürediği gibi kriterler göz önüne alınmalıdır (24).

Kontaminasyona neden olan bakterilerin çoğunluğu deri florası elemanıdır. Bu bakteriler başka besiyerlerinde gözlemlenmezler. Uzun bir inkübasyon süresi sonrasında tesbit edilebilirler (23,25). Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS)

Corynebacterium spp, *Propionibacterium acnes* (*P.acnes*) gibi deri flora bakterileri birden fazla kan kültüründen tesbit edildiğinde kontaminant kabul edilirler (24).

Bu sebeple KNS'lerin kontaminant olarak değerlendirilmesi, klinik olarak anlamlı bir şüphenin aşılmasında önemli rol oynar (23,26). KNS ancak iki veya daha fazla kan kültüründen tesbit edildikleri zaman anlam kazanırlar. Bununla birlikte suşların genotipik ve fenotipik olarak tiplendirilmeden gerçek bakteriyemi olduğunu söylemek her zaman doğru ve mümkün değildir. Buyüzden iki veya daha fazla kan kültüründen koagülaz negatif stafilokok tesbit edileceği zaman ayrıca antibiyotik duyarlılık testleride yapılarak gözlemlenmelidir. Farkedildiği gibi deri flora elemanlarının yorumlanmasında sadece kültür sayısına bağlı kalmak yanlış sonuç verebilmektedir (24).

3.3. Zor Üreyen Mikroorganizmaların Saptanmasında Kullanılan Çeşitli Yöntemler

Konvansiyonel çeşitli sıvı besiyeri arasında Triptik Soya Agar (TSA), en çok tercih edilen besiyerlerinden biridir. Beyin-Kalp infuzyon (BHI), Columbia, Brucella, thioglikolat ve suplementli pepton broth besiyerleri de aerob ve anaerob standart besiyerinde üremesinde güçlük çekilen mikroorganizmalar kan kültüründe kullanılmaktadır. Kan kültürü cihazında pozitif çıkan kan kültür şişelerinden yapılan preparatların Gram boyama yöntemi ile mikroorganizmaların varlığı gözlenemeyebilir. Bunun nedeni ise bu mikroorganizmaların çok küçük yapıda olmaları, değişik morfolojide olmaları ya da *Mycoplasma* gibi Gram boyama yöntemi uygulanamayan mikroorganizmaların var oluşudur. Böyle durumlarda ise başvurulması gereken tek yöntem preparatın akridin oranj boyası ile boyanmasıdır (14).

3.3.1. Zor üreyen streptokoklar, *Granulicatella* türleri, *Abiotrophia* türleri

Kan kültürü sistemlerinde pozitif sinyale neden olurlar ve besiyerlerinde üremeleri iyidir ve genellikle iki günlük inkübasyon süresinde saptanabilirler. Gram boyama ile kolayca gözlenebilirler. Kanlı agar besiyerinde üreyemezken çukolatamsı agarda üreyebilirler. Bu bakteri türlerinin tesbiti için; sistein varlığına bağlı kaldıklarından *S.aureus* ile çapraz olarak kanlı agara ekildikten sonra ardarda yapılan ekimler sonucunda koloniler uydu şeklinde gözlemlenirler (14,15,16).

3.3.2. *Bartonella*

Kan kültürü cihazından pozitif sonuç çıkan şişelerden alınan yaklaşık 6 ml civarındaki sıvı besi yeri lizis santrifügasyon tüplerine aktarılması durumunda *Bartonella* türleri izole edilebilir (16).

3.3.3. *Brucella*

Otomatize kan kültürü sistemlerinde *Brucella* bakterisi standart ya da biraz uzatılmış inkübasyon süreleriyle 7 gün içerisinde izole edilebilmektedir (16).

3.3.4. *Campylobacter*

Campylobacter; küçük, virgül ve ince basillerdir. Pozitif çıkan kan kültürü şişelerden bu bakteriyi görebilmek için Gram boyama yerine akridin oranj boyama yönteminin uygulanmalıdır. Kültür pasajları Colombia kanlı agar besiyerine yapılmalıdır (16).

3.3.5. *Francisella tularensis*

Francisella tularensis (*F.tularensis*), çok küçük, pleomorfik özelliği nedeniyle, otomotize sistemlerinde pozitif çıkan kan kültürü şişelerinden uygulanan Gram boyama yöntemiyle kolaylıkla tesbit edilebilirler. Kan kültür şişelerinden koyun

kanlı agar besiyerine yapılan ilk pasajlarında üreyebilseler de bir sonraki pasajında üremesi güçleşebilir (14,16).

3.3.6. *Helicobacter*

Helicobacter cinaedi (*H.cinaedi*) ve diğer türler çoğunlukla immün düşkün hastalardan alınan kan kültüründen 7 günlük inkübasyondan sonra rahatlıkla izole edilebilir. Bu bakteri, Gram boyama ile kolay görülmediğinden akridin oranj boyası ile boyanmalıdır (16).

3.3.7. *Legionella*

Toplum kökenli pnömonilerin yaygın patojenik özellik göstermesi ile birlikte, pnömoniye sekonder *Legionella* kaynaklı bakteriyemi genelde görülmez (14). *Legionellalar* ticari kan kültürü sıvı besiyerinde (broth) yaşayabilselerde çoğalmaları mümkün değildir. Bu nedenlerle özel besiyerleri ve özel ortamlara gereksinim gösterirler (16).

3.3.8. *Leptospira*

Hastalığın ilk haftasında kan kültürü hemen uygulanmalıdır. Çünkü sebep olduğu bakteriyemide 7 günden sonra bakterinin tespiti zordur. *Leptospira* yüksek sıcaklıkta yaşamadığından, kültürler 30°C’de tutulmalı, sonra hızlı bir şekilde uygun besiyerlerine pasajları yapılmalıdır. Pasajlarda kulalnılan besiyerlerinin Tween 80 ve sığır serum albumin içermesi gerekmektedir (27).

3.3.9. Mantarlar

Mantarların tesbiti için otomatize sistemlerde veya kan kültürü sıvı besiyerlerinden 5 veya 7 günlük inkübasyondan sonra mantar besiyerine ekimleri yapılarak bu mikroorganizmalar rahatlıkla izole edilebilir (16). Sabouraud glukoz, patates dekstroza agar kullanılan en uygun besiyerleridir (16).

3.3.10. *Mycobacterium*

Mycobacterium için ticari sistemlerde özgül sıvı besiyerleri bulunur. BacT/ALERT MB sistemi gibi bazı durumlarda kan hasta başında direkt şişeye inoküle edilir ve inkübasyondan önce özgül zenginleştirilmiş sıvı ilave edilir (19,28).

3.3.11. *Mycoplasma*

Kan kültürlerinde izole edilebilirler. Ancak standart kan kültürü sistemleri hücre duvarı olmayan bu mikroorganizmaların üremesini nadiren sağlar. Pozitif şişelerde akridin oranj boyası yöntemi ile *Mycoplasma* türleri aranabilir (16). Shepard's A-7 veya pH 4.5'te SP4 bifazik besiyeri gibi özgül *Mycoplasma* besiyerlerine ekim ve 7 güne kadar %5 CO₂'li ortamda bekletilmesi şarttır. 35°C'de anaerob bir ortamda inkübasyona bırakılmalıdır. Columbia çukulatamsı agar besiyerlerine yapılan ekimlerde de zaman zaman üremeleri sağlanabilmektedir (14,15,16).

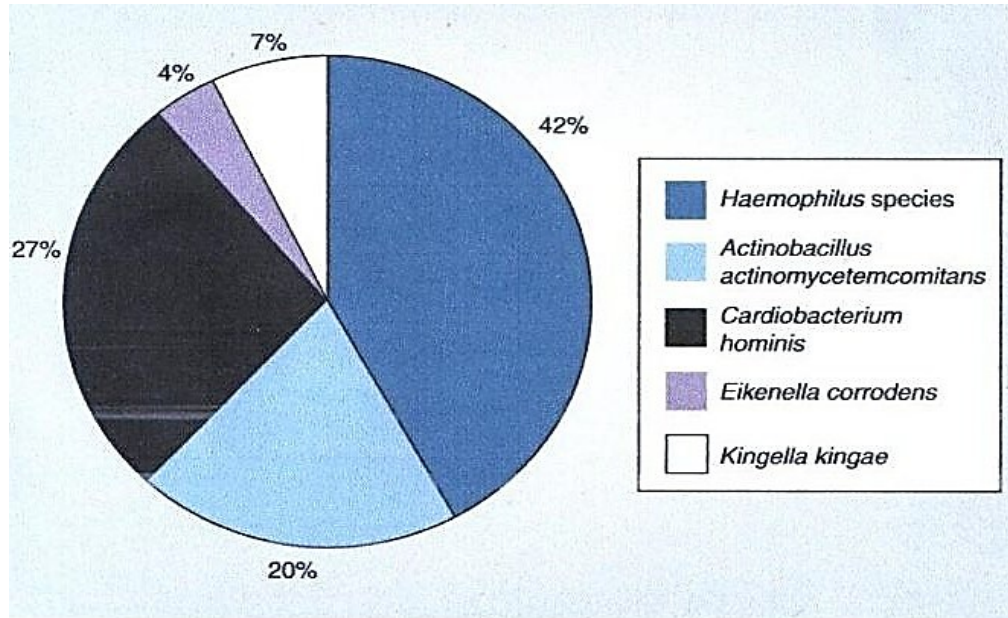
3.3.12. *HACEK* grubu

HACEK grubu olarak bilinen; *Haemophilus* spp., *Aggregatibacter* (önceki adıyla *Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* ve *Kingella* spp. isimli bakterilerin baş harflerinden oluşmaktadır. EE şüphesinde *HACEK* grubu bakteriler hastalığın tanısı açısından en önemli kriterlerden dir (29). EE etkeni olarak; streptokoklar ve stafilokoklar %80-90 oranı ile ilk sırada yer almakla birlikte, yine hastalığa etken olan mikroorganizma cinsleri değişiklikler göstermektedir. *HACEK* grubu bakteriler, anaerob bakteriler, *Coxiella* türleri, *Bartonella* türleri, *Chlamydophila pneumoniae* (*C.pneumoniae*) ve *Tropheryma whippelii* (*T.whippelii*) gibi bakteriler, *Candida* ve *Aspergillus* gibi mantarlar ve hatta

viruslar son yıllarda önem kazanan nadir EE etkenleri arasında yer almaktadırlar (30,31) .

HACEK grubu bakteriler zor üreyen Gram negatif basiller grubudur. *HACEK* grubu organizmaların ortak özellikleri, sık olarak orofarinkste bulunmaları, yavaş üremeleri ve karbondioksit varlığında üremelerinin daha da artmasıdır (32).

Bu mikroorganizmalar 16S rRNA dizileri baz alındığında monofiletik değildir ve bakteriyal sınıflandırmada temsil edilmezler (33). *HACEK* grubu mikroorganizmaların doğal kapak endokardit olgularının %3'üne sebep olduğu bilinmektedir (33). İlk haftada bakteriler kan kültüründe hemen saptanabilirler. Endokardite sebep olan bu grupta yer alan bakterilerin tesbiti için alınan kan kültürlerinde 5 günden sonra hala negatif ise, pasajlara ve inkübasyon süresi uzatılmasına ihtiyaç olabilir. Şekil 1’de *HACEK* grubu bakterilerin EE nedeni olma sıklıkları gösterilmiştir (34).



Şekil 1. *HACEK* grubu bakterilerin EE nedeni olma sıklıkları (34).

3.3.12.1. *Haemophilus*

Haemophilus cinsi, *Pasreurellaceae* ailesinde yer alan Gram negatif bir bakteridir. Bu cinsteki bakteriler küçük, pleomorfik, hareketsiz, fakültatif anaerob, aside dirençli olmayan kokobasillerden filamantöz basillere kadar değişebilen sporsuz basillerdir. Bazı türleri kapsüllüdür. Genellikle oksidaz ve katalaz pozitifdir. Yalnızca insan solunum sistemindeki mukoza membranlarına adapte olmuş zorunlu parazitlerdir (35-36). İnsanlarla ilgili güncel olarak tanımlanmış *Haemophilus* türleri; *Haemophilus influenzae* (*H.influenzae*) sbsp *aegyptius*, *H.aphrophilus*, *H.parahaemolyticus*, *H.parainfluenzae*, *H.paraphrophilus*, *H.segnis*, *H.ducreyii*, *H.pittmaniae*, *H.haemolyticus*'dur (37,38).

Bütün *Haemophilus* türleri fakültatif anaerobtur. Cins ismi kanda bulunan yardımcı büyüme faktörlerine ihtiyaç duyulan in vitro üreme gerçeğine dayanarak konulmuştur: X faktör (hemin; 'X' bilinmeyen için) ve V faktör (NAD; 'V' vitamin için). Diğer türlerin çoğu bu faktörlerin yalnızca birine gereksinim duyarken *H.influenzae* her ikisine birlikte gereksinim duyar (37,38).

Çok az türün kökenleri %5-10 CO₂ eklenmiş nemli atmosferde daha iyi ürer. Üreyebileceği en iyi ısı yaklaşık 33-37°C'dir. *Haemophilus* türleri, karbonhidratların bazılarını fermente eder; glikozun fermentasyonu sonucu oluşan son ürünler, süksinik, laktik ve asetik asitlerdir. Bazı türlerin kökenleri (örn. *H.aphrophilus*), fermentasyon besiyerinde gaz oluştururlar. Bütün *Haemophilus* 'larda alkalın fosfataz pozitifdir ve nitratları indirgerler. *Haemophilus* türlerinde DNA'nın G+C içeriği %37-40 mol arasında değişmektedir (39). Baskın olan hücre duvarı yağ asitleri; n-tetradekanoat (14:0), 3-hidroksi-tetradekanoat (3-OH-14:0), hekzadekanoat (16:1) ve n-hekzadekanoat'dır (16:0) (37).

3.3.12.1.1. *Haemophilus* Epidemiyoloji

Haemophilus bakterileri, sağlıklı kişilerin üst solunum yolunun normal bakteri florasının yaklaşık olarak %10'unu oluşturur. Baskın olarak II veya III olan kapsülsüz *H.influenzae* suşları, sağlıklı çocukların çoğunun farinksinde bulunur, fakat toplam bakteri florasının %2'sinden daha azını oluşturur (40,41). Lokal enfeksiyon süresince bir tek *H.influenzae* kolonisi, genellikle farinks ve nazal kavitedeki bakteriyal flora hakim olur. Kişinin artan yaşıyla birlikte, üst solunum yolundaki *H.influenzae* taşıyıcılığının sıklığı azalır (41). Üst solunum yolundaki durumun aksine, kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalar ise sıklıkla kapsülsüz *H.influenzae*'nin bir veya bir çok kolonisiyle inatçı bir şekilde çoğalırlar (42).

Bazı özel popülasyonlar da yüksek oranda bulunabilmesine rağmen, aşısız bireylerin çoğunda, *H.influenzae* serotip b taşıyıcılığı, yüksek bulunsa da yaşamın ilk 6 ayı süresince %1'in altındadır. Fakat çocukluk çağıının geri kalan süresinde ortalama %3-5 kadardır (43,44). *H.influenzae* hariç, *H.parainfluenzae*, *H.pittmaniae*, *H.aphrophilus*, *H.paraphrophilus* ve *H.segnis* türleri damak kemerinin önünde bulunan oral kavitenin normal mikroflorasının normal üyeleridir. *H.aphrophilus*, *H.paraphrophilus* ve *H.segnis* türleri dental plak olarak bilinen diş yüzeylerindeki biyofilmlerde baskın olarak bulunurlar. Sağlıklı bireylerde *H.paraphrophilus* ve *H.haemolyticus* taşıyıcılığı yokdenecek kadar azdır (37).

Haemophilus influenzae; birçok ülkede aşılama programları uygulanıncaya kadar, tüm dünyada, bakteriyel menenjitin üç ana etkeninden birisiydi. Olguların çoğunluğu 3 aylık ile 3 yaş arasındaki ufak çocuklarda olup, enfeksiyon insidansı 6-7 aylıkken en yüksek zirvesine ulaşmaktadır. Gerçekte hepsi serotip b ile oluşmakta ve çoğunlukla biyotip I'e ait olarak bulunmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde

invaziv *H.influenzae* serotip b enfeksiyonlarının yıllık sayısı 100'ün altındadır, çoğunluk olarak aşılammamış veya eksik olarak aşılammış çocuklarda görülür (45,46).

Haemophilus influenzae tip b, birçok gelişmekte olan ülkelerde ve Asya ülkesinde aşılammamış çocuklar da, menenjitin önde gelen sebebidir. Her yıl dünya çapında yapılan araştırmalarda ufak çocuklarda, ciddi hastalık bulgusu ve 400.000-700.000 kadar ölümün meydana geldiği bilinmektedir (47). *H.influenzae*'nin kapsüllü kökenlerinin kan dolaşımına invazyonu sonucunda septik artrit, osteomyelit, sellülit ve perikardit de oluşabilir (44,47,48).

Haemophilus influenzae suçları Sağlıklı insanların solunum yollarında (Baskın olarak biyotip II ve III) bulunur ve çocuklarda sıklıkla enfeksiyonlara neden olur. Kapsülsüz *H.influenzae* ile meydana gelen enfeksiyonlar genellikle üst solunum yolu ile bulaşmış yerlerde gelişir (48). Bu durumda olguların bildirilmesine karşın her zaman bakteriyemi ile sonuçlanmaz (49,50,51). *H.influenzae* bazen yeni doğan enfeksiyonlarına neden olur, bazı ülkelerde bu enfeksiyonlar çoğunlukla genetik olarak diğer *H.influenzae* kökenlerinden farklı olan biyotip IV kökenleriyle gelişir. (52-53). Hem *H.influenzae* hem de *H.parainfluenzae* üriner sistem enfeksiyonlarına sebep olurken bazende peritonitte rol oynar (44, 52, 53, 54).

3.3.12.1.2. *Haemophilus spp.* Tanı

Haemophilus türleri %5-8 koyun kanı içeren çikolatamsı agarda, oda sıcaklığında %5 ile %10 arasındaki CO₂'li ortamda 48 saat inkübe edilerek üretebilirler. Birçok *Haemophilus* türü konvansiyonel çikolatalı agarda çok iyi ürerken, standart %5'lik koyun kanlı agarda ürememektedir. Bütün *Haemophilus* türleri *Haemophilus spp.* Nutrientten zengin ve X ve V faktörlerini içermeyen selektif olmayan ticari olarak bulunabilen doyurulmuş X, V veya X ve V faktörlerini içeren

filtre kâğıdından yapılmış disklerin besiyerlerinin yüzeylerine konulması suretiyle bu tip besiyerlerinde üreyebilir (Örn; Müeller-Hinton agar). Bu teknik *Haemophilus*'un tür seviyesinde identifikasyonu için kullanılmaktadır. *Haemophilus* türlerinin biyotiplerini tanımlamak için API 20E ve API 10E sistemleri ve HNID sistemi gibi çeşitli ticari kitler mevcuttur (55). Bununla beraber, bazı durumlarda tanı güçtür ve 16S rRNA gen analizini kullanan moleküler teknikler daha kullanışlı olabilirler (33, 56).

Karışık floralı bölgelerden yapılan kültürlerde *Haemophilus* kolonileri nispeten yavaş üremeleri ve ufak olmaları nedeniyle gözden kaçabilir. Böyle durumlarda, seçici ajanlar içeren besi yerleri veya özel bir inkübasyon işlemi ile çözümlenebilir. Modern ticari kan kültürü sistemleri, kan örneklerinden mükemmel bir şekilde haemophilus türlerinin izolasyonunu sağlar. Bununla beraber aynı sistemler normal olarak steril olan, plevra sıvısı, eklem sıvıları, asit sıvıları gibi vücut sıvılarından veya diyaliz sıvılarından kan (Örn; insan kanı, 1:8, hacim/hacim) veya X ve V faktörleri eklenmeden, *Haemophilus* türlerinin izolasyonu zorlaşmaktadır (57,58).

Omurilik sıvısının veya kan kültürlerinin alt pasajları, hem çukulatamsı agara hem de kanlı agara yapılmalıdır. Kistik fibrozlu hastalardan alınan balgamin kültürlerinde, *P.aeruginosa*'nın, *H.influenzae*'yi baskılayacak şekilde çok fazla üremesi, litrede 300 ml basitrasın içeren çukulatamsı agar plaklarına yapılan ekimlerin, anaerop ortamda inkübasyonuysa, tam olmasa da çözümlenmiştir. *Haemophilus* türlerinin tespiti üst solunum yollarından yapılan kültürlerinde, basitrasın içeren çukulatamsı agar besi yerinin kullanılmasıyla önemli ölçüde artmıştır (37).

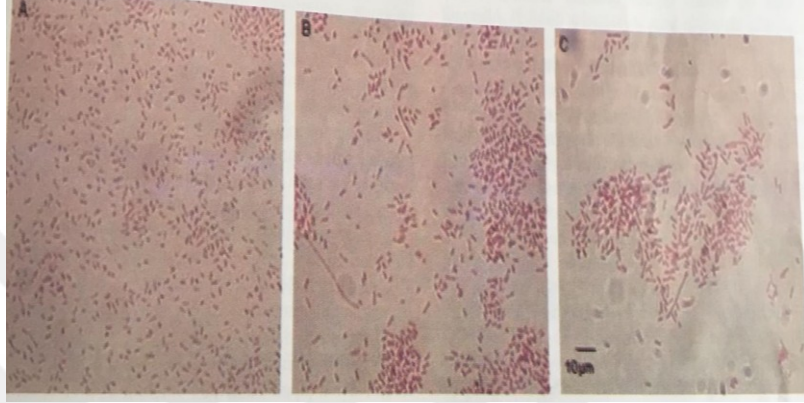
Bununla beraber, mikroflorada bulunan hemofillerin nispi oranını değerlendirmek için mutlaka selektif olmayan bir besi yeri kullanılmalıdır. Alt solunum yolu sekresyonları ve aspirasyon sıvıları veya lokalize enfeksiyonlardan alınan cerehat sürüntüleri hem besleyici bir suçla çapraz olarak inoküle edilmiş %5 kanlı agara hem de çukulatamsı agara inoküle edilmelidir. *H.ducreyii* dışındaki bütün *Haemophilus* organizmalarının kültürleri 35-37°C arasında inkübe edilmelidir. *Haemophilus* türlerinin çoğu sağlanan optimal şartlarda, 18-24 saatlik inkübasyondan sonra 1-2 mm çapında koloniler oluşturarak ürer (56).

Haemophilus influenzae çukulatamsı agarda, 24 saatlik inkübasyondan sonra grimsi, yarı-saydam, düzgün ve 1-2 mm çapına ulaşabilen, düz konveks koloniler oluşturur. Petrinin yoğun koloni bulunan alanlarında, kapsüllü kökenler bitişik olarak üremeye meyilli iken, kapsülsüz koloniler ayrı koloniler halinde ürer. Levintal'ın agarı gibi saydam besi yerlerinde, kapsüllü kökenlerin kolonileri, ışık arkadan eğri olarak yansıtıldığı zaman, parlak bir gökkuşağı (Kırmızı, mavi, yeşil ve sarı) pigment gösterir (56.58).

Bu olay, en net şekilde genç kültürlerde (10-18 saatlik) gözlenir ve uzamış inkübasyonlarda kademe kaybolur. Tip b serotipi dışındaki bazı kapsüllü kökenlerde bu gökkuşağı yansıması çok belirgin değildir. Aynı yöntemle incelenen kapsülsüz kökenler daha çok birbirine benzer şekilde mavimsi yeşil renk verir. Menenjit ve epiglottit olgularından izole edilen kökenler, her zaman kuvvetli olarak indol üretir, bazı kapsülsüz izolatlar da aynı şekilde indol üretir (57.58)

Agar besiyerindeki üremenin sonucunda ulaşan indolün salınması, *E.coli*'ye benzer bir şekilde karakteristik keskin bir kokunun meydana gelmesine neden olur. Bunun dışındaki *Haemophilus* kökenleri “fare yuvası kokusu” salar (57.58).

Haemophilus izolatları Gramla boyanmış preparasyonlarda, değişik polimorfizm gösteren ufak Gram negatif çomaklar şeklinde görülür. Şekil 2’de *Haemophilus influenzae*’nin Gram’la boyanma mikroskopik görüntüsü (A), *H.aegyptius* (B), ve *H.influenzae* biyogrup. *aegyptius* (C) kokobasil ve filamentöz yapısı gösterilmiştir (58).



Şekil 2. *Haemophilus influenzae*’nin Gram’la boyanma mikroskopik görüntüsü (A), *H.aegyptius* (B), ve *H.influenzae* biyogrup. *aegyptius* (C) kokobasil ve filamentöz yapısı (58).



Şekil 3. *Haemophilus* izolatlarının, at kanlı agarda, bir çizgi boyunca üremiş *S.aureus* etrafında üreyen kolonisi (59).

Şekil 3’de görüldüğü gibi, petrinin üst kısmında tipik olarak, birçok *Haemophilus* türünün satellit (uydu) koloniler şeklinde üreme karakteristiği

gözlenmektedir. Petrinin alt kısmında ise, V faktör gereksinimi olmasına rağmen, satellit koloniler şeklinde üreme göstermeyen, *H.parahaemolyticus*'un üremesi görülmektedir. *H.parahaemolyticus* kanlı agarda piyojenik streptokoklara benzeyen koloniler oluşturmaktadır (59).

Haemophilus türlerinin vahşi-tip kökenleri ampisilin, sefalosporinler, kloramfenikol, sulfomamidler, tetrasiklinler ve makrolid-azalid-ketolid grubu antimikrobiyallara karşı duyarlıdır. Bununla beraber başlıca yol olarak konjigatif plazmidlerin yayılması nedeniyle, klinik izolatların büyük bir kısmı, ampisilin ve diğer birçok β -laktan antibiyotiğe, kloramfenikole ve tetrasiklinlere karşı duyarlıdır (59, 60, 61, 62).

Haemophilus influenzae izolatlarının, ampisiline direnç oranları, farklı ülkelerde %5-60 arasında değişir. Bu gelişmeyle birlikte *H.influenzae*'nin şüpheli patojen olduğu enfeksiyonların ampirik tedavisi için aminopenisilinler ve belirli sefalosporinler tedaviden çıkarılmıştır. Penisilin bağlayan proteinlerdeki mutasyonlara bağlı olarak ampisilin MİK değerlerinin yükseldiği β -laktamaz-negatif kökenler de bulunmaktadır (63, 59, 64, 65).

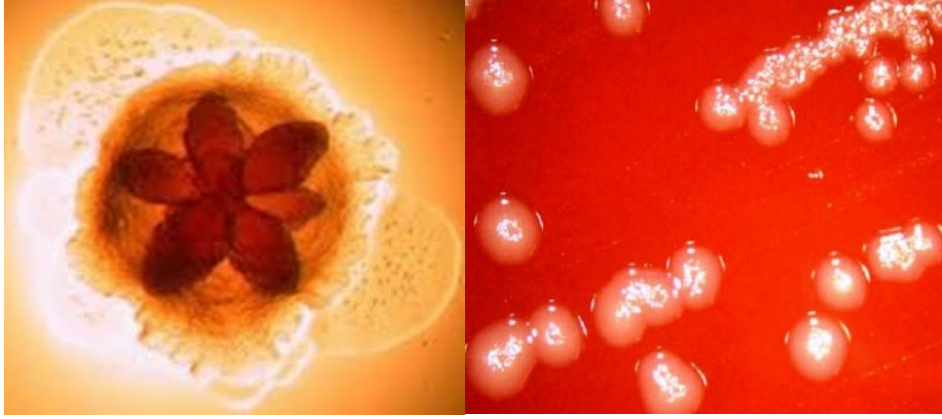
Bu kökenler, β -laktamaz negatif ampisilin dirençli (BLNAR) olarak adlandırılırlar. ABD'nin BLNAR *H.influenzae*'nin prevalansı hala %1'in altındadır. Fakat son zamanlarda çeşitli Avrupa ülkelerinde yapılan araştırmalar, *H.influenzae* izolatları arasındaki prevalansın %2-20 arasında olduğunu göstermektedir (66). Test edilen diğer sefalosporinlerin aksine, sefiksin hala BLNAR fenotipindeki *H.influenzae*'lere karşı tam olarak etkindir (67). Makrolid direnci azitromisin için yaklaşık %1 ve klaritromisin için %10 civarındadır ve vakaların çoğu orta düzeyde dirençlidir. Florokinolonlara karşı direnç hala nadir olarak bulunmaktadır (68,62).

3.3.12.2. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Aggregatibacter actinomycetemcomitans (*A.actinomycetemcomitans*), Gram negatif, hareketsiz ve basil şeklindedir. Fakültatif anaerop bir bakteri olan *A.actinomycetemcomitans* hem oksidaz hem de alkalın fosfataz pozitifdir (69).

Nitratları nitrite indirger, fakat Simmons sitratlı besiyerinde üreyemez, arginin dihidrolaz reaksiyonu negatiftir ve adonitol ve sorbozdan asit oluşmaz (69). Katı besiyerinde küçük Gram negatif basil olarak görülürken sıvı besiyeri/glikoz veya maltoz içeren besiyerlerinde daha uzun olarak görünürler ve bifazik boyanırlar. Tek, çiftler halinde veya nadiren kısa zincir şeklinde görünürler. Üremeleri için zorunlu olmamakla birlikte zengin besiyerine gereksinim duyarlar. %5-10 CO₂'li ortamlar üremeyi artırır (69).

Aggregatibacter'in diğer türleri; *A.lignieresii* (Koyun ve sığır gibi hayvanların ağız boşluklarında doğal olarak bulunur), *A.equuli subsp. equuli* (At ve domuzların ağız boşluğunda doğal olarak bulunur), *A.equuli subsp. haemolyticus*, *A.suis* (Domuzların ağız boşluğunda doğal olarak bulunur), *A.ureae* (insanda bulunur) ve *A.hominis* (insanda bulunur)'ini içerir. *A.actinomycetemcomitans* kolonileri, başlangıçta merkezi bir nokta ve düzensiz kenarlar gösterirken, inkübasyon devam ettikçe yıldız şeklinde “birbirini çaprazlayan sigaralar” görüntüsüne benzeyen bir şekil gösterirler ve art arda çukur oluştururlar (69). Şekil 4 ve 5’de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* kanlı ve çukulatamsı agardaki kolonilerinin görünümü gösterilmiştir (69).



Şekil 4. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* kanlı ve çukulatamsı agardaki kolonilerinin görünümü (69).



Şekil 5. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* çukulatamsı agardaki kolonisinin görünümü (69).

Birçok tekrarlayan kültürden sonra, bu yapı fimbriya kaybına yansıtacak şekilde opak yumuşak çukurlaşmayan kolonilere dönüşebilir. Sıvı besi yerinde, bakteri küpün kenarlarına ve altına yapışan granüller oluşturur. *A.actinomycetemcomitans* erişkin ve juvenil periodontitisin en önemli etkenlerinden biridir (70). *HACEK* grubu bakteriler aynı zamanda endokardit ile yumuşak doku ve diğer enfeksiyonlarına neden olurlar (71,72).

Dental örneklerden *A.actinomycetomcomitans* izolasyonu için seçici besiyerleri önerilir. Şeffaf görümlü triptik-soy-serum-basitrasin-vankomisin besiyerinde ise, kolonilerin yapısı daha iyi gözlemlenebilir. Katalaz aktivitesi bu besiyerinde daha kolay saptanabilir (73). Tüp aglütinasyon veya multipleks PCR ile saptanan yüzey polisakkaritleri esas alınarak *A.actinomycetomcomitans*'in a, b ve c en sık olmak üzere altı serotipi tanımlanır. Serotip b peridontit, penisilin direnci ve endokardit ile ilişkiliyken, serotip c diğer ağız dışı enfeksiyonlarla ve periodontal ile ilişkilidir (74). *A.actinomycetomcomitans* genellikle sefalosporinler, ampicilin, doksisisiklin ve aminoglikozidlere duyarlıdır; penisilin ve makrolidlere direnç azdır (71, 75, 76, 72, 77).

3.3.12.2. 1. *Aggregatibacter actinomycetomcomitans* Epidemiyoloji

Aggregatibacter actinomycetomcomitans direk enfeksiyonla ilişkilidir ve isminden anlaşılacağı gibi yaygın olarak insan periodontal kültürlerinde bulunur (78). Yapılan çalışmalarda 93 bildirilmiş olguyla, *HACEK* grubunda en sık endokardit etkeni *A.actinomycetomcomitans*'dir (79). Bulaşıcıdır ve lokalize juvenil periodontal hastalıklı hastaların aile üyelerinin %50'si bu organizmaya sahipken, genel popülasyonun %25'inden daha azında bu bakteri bulunur (78). *A.actinomycetomcomitans* endokarditli hastaların %46'sında daha önce var olan bir dental hastalık bulunmuştur ve bu endokarditli hastalar genellikle genç ve orta-yaşlı hastalardır. Bu grup hastalarda, daha önceki bir kardiyak kapak hasarı (%33) ve prostetik kapaklar (%28) gibi rahatsızlıkları da içeren altta yatan bir kalp hastalığı bildirilmiştir. Serilere bağlı olarak olgu fatalite hızı %9-15 arasındadır. Akut kardiyak yetmezlik, persistan enfeksiyon veya sistemik emboliden sonra hastaların %28'i için kapak değişimine ihtiyaç duyulmuştur (79).

3.3.12.2. 2. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Tanı

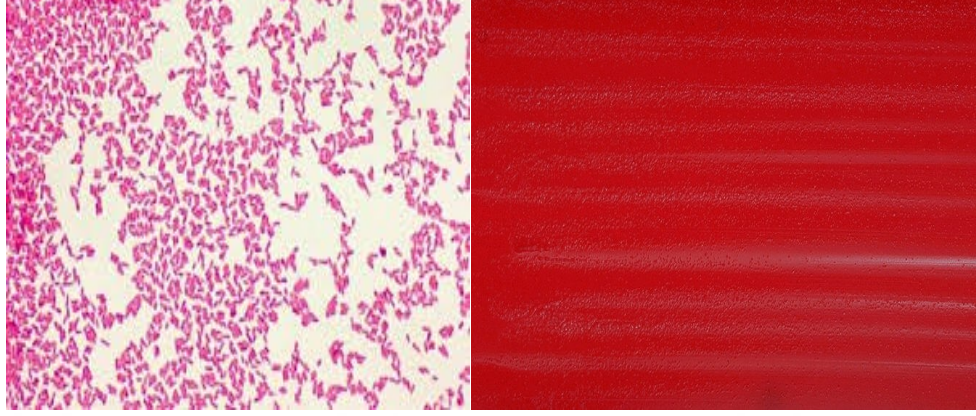
Zor üreyen bir bakteri olması mikrobiyolojik tanıda gecikmelere neden olabilmektedir. Araştırmacılar kan kültürlerinde bu bakterinin ortalama üreme zamanını 7 gün olarak bulmuşlardır. Çok az olguda bu sürenin 3 gün olduğu ve üremenin ilk 3 günde olduğu görülmüştür. Kan kültürü kapak kültürüne oranla daha duyarlı olarak bulunmuş olup moleküler yöntemler kan kültürüne alternatif olabilirler (78).

3.3.12.3. *Cardiobacterium hominis*

Cardiobacterium hominis (*C.hominis*), mikrobiyolojik olarak; pleomorfik Gram negatif basillerdir (80). Fakültatif anaerop olup, en iyi CO₂'i artırılmış nemli atmosferlerde üremektedir. *C.hominis*, indol oluşturur ve oksidaz pozitifdir. Glukozu, sorbitol, mannoz ve sükrozu bazı durumlarda da maltoz ve mannitolü fermente eder. Üreaz, katalaz, nitrat redüktaz, fenilalanin deaminaz, beta-galaktosidaz, lizin 11 dekarboksilaz, ornitin dekarboksilaz ve arginin dihidrolaz aktivitesi göstermemesi ile diğer *HACEK* grubu organizmalardan ayrılır (80).

Cardiobacterium hominis, kısa zincirler, çiftler veya rozetler halinde bulunur, uçları soğan biçiminde görülür, düzensiz boyanırlar, besiyerine yeast ekstrakt eklenmesinin (Örn. Çukolatamsı agar içine) bu pleomorfizmi bozduğu görülmektedir. Başlangıç üremesi için %5-10 CO₂ gerekir. 48 saat 37C°'den sonra kanlı agarda oluşan koloniler yaklaşık 1 mm çapına ulaşır, yuvarlak, düz ve opaktırlar ve agarı çukurlaştırabilirler. *C.hominis*'in doğal olarak bulunduğu yer insan üst solunum yeri ve aynı zamanda gastrointestinal ve genitoüriner yollardır (81). Kan kültürü negatif olan olgularda tanı "broad-range PCR" ile ve kalp kapağı ve embolik dokularda boyama ile yapılır (82,83). *C.hominis* ve *C.valvarum* penisilin dahil birçok antimikrobiyole duyarlıdır. β -laktamaz üretimi çok nadirdir ve klavulanik asitle inhibe

edilebilirler (84). Şekil 6’da *Cardiobacterium hominis*’in Gram boyanma mikroskopik ve kanlı agardaki koloni görünümü gösterilmiştir (81).



Şekil 6. *Cardiobacterium hominis*’in Gram boyanma mikroskopik ve kanlı agardaki koloni görünümü (81).

3.3.12.3. 1. *Cardiobacterium hominis* Epidemiyoloji

Cardiobacterium hominis, ilk olarak 1962 yılında endokarditli bir hastadan izole edilmiştir. O zaman Pasteurella-benzeri bir organizma olarak düşünülmüş grup II D olarak sınıflandırılmıştır *C.hominis* endokarditin nadir etkenlerinden birisidir. (80). *C.hominis*, bir çalışmada normal sağlıklı insanların %68’inin burun ve boğazlarında bulunduğu gösterilmiştir. Fluoresans antikorlarıyla dışkı örneklerinde de gösterilmiştir. Dental prosedür gibi bazı faktörler hastaların *C.hominis* endokarditine yakalanmalarını kolaylaştırmaktadır. Yapısal kardiyak anomaliler de *C.hominis* endokartine yakalanma şansını arttırmaktadırlar. Literatürde bu durum %76 (58 olgunun 44’ü) olarak bulunmuştur (80).

3.3.12.3.2. *Cardiobacterium hominis* Tanı:

Cardiobacterium hominis kan kültürlerinde uzun bir inkübasyon süresi sonucunda izole edilebilirler. Pozitif kültürler, genellikle 2-14 gün arası inkübasyondan sonra otomatize sistemlerde sinyal verirler. Bununla beraber 16s

rRNA'yı amplifiye ederek geniş spektrumlu PZR yöntemi ile *C.hominis*'i tanımlamak mümkündür (80).

3.3.12.4. *Eikenella corrodens*

Eikenella corrodens (*E.corrodens*), Gram negatif olup, hareketsiz, ince, düz, küçük basillerdir. Oksidaz pozitif, katalaz negatif ve nonfermentatiftir. Nitratları nitrite indir, indol üretir ve arginini hidroliz eder. Mac Conkey agarda üreyemez, kanlı agar besiyerinde ise ufak, non-hemolitik, mat, çukur yapmış, hafifçe düzensiz sınırları olan ve kirli sarı renkte koloniler oluşturur (85).

Eikenella corrodens türünün çok azı dışında üremeleri için hemin ve %5-10 CO₂'e ihtiyaç duyarlar (85). Zayıf ürerler veya üç şekerli demirli Kligler agarda hiç üremezler. 48 saat üremeden sonra koloniler 1-2 mm çapta ve etrafa yayılan üreme ile çevrili şeffaf merkezler gösterirler ve agarı çukurlaştırabilirler. Hipoklorid kokusunda olup, günler sonra hafif sarı renk verirler. Sıvı besiyerinde granüller oluşur. Şekil 7'de *Eikenella corrodens*'in çikolatamsı ve kanlı agardaki koloni görünümleri gösterilmiştir (85).



Şekil 7. *Eikenella corrodens*'in çikolatamsı ve kanlı agardaki koloni görünümleri (85).

Eikenella corrodens, genellikle dental ve peridental enfeksiyonlarla, oküler enfeksiyonlarla ve pleuropulmoner enfeksiyonlarla ilişkili bir bakteridir. Valvular hasar veya diş çekimi olan hastalarda bakteriyemi ve endokardite neden olurlar. Kutanöz, subkutanöz apse, intestinal genitoüriner enfeksiyonlar, osteomyelit, serebral apse ve intravenöz olarak uyuşturucu kullanımıyla ilişkili sellülit gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olabilirler (86).

Eikenella corrodens diş eti ve dentalde bulunan bu bakteri diş çekiminden 1 dakika sonra yapılan kan kültürlerinin %162'sından tesbit edilmektedir. *E.corrodens* kullanılan enjektör iğnelerinin enjeksiyondan önce tükürükle kontaminasyonuna bağlı olarak, özellikle intravenöz uyuşturucu kullananlarda yüksek miktarda bulunmuştur. Enfeksiyon 12 genellikle polimikrobiyaldir (%50) ve triküspit kapağı infekte eden *Streptococcus* spp. ve *E.corrodens* ile ilişkilidir. Diğer bilinen predispoze durumlar, daha önceki bir kapak hasarı, prostetik kalp kapakları ve lösemi gibi immünokompromize durumlardır. *E.corrodens* endokarditi sinsi gidişli bir hastalıktır ve nadiren öldürücüdür (86).

3.3.12.4.1. *Eikenella corrodens* Tanı

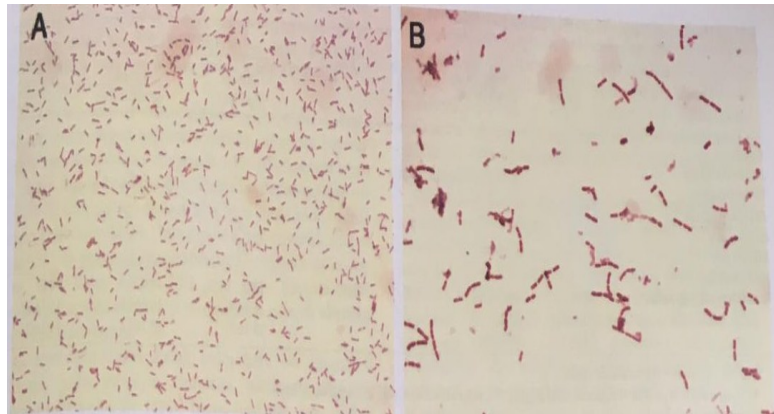
Eikenella corrodens'in kan kültürlerinden izole edilebilir. Bununla beraber bazı durumlarda tanı güçtür ve 16S rRNA gen analizini kullanan moleküler tekniklerde kullanılabilir (86). Sıklıkla orofaringeal floranın diğer üyeleri karışık bir biçimde bulunurlar. Bakteri için en önemli risk faktörleri, diş uygulamaları ve intravenöz ilaç kullanımıdır. Endokardit eğer monomikrobiyal ise *HACEK* tipindedir; ancak polimikrobiyal olguların olduğuda bilinmektedir (87). İlk izolasyonlarında klindamisin içeren seçici besiyerlerinin kullanılmalıdır veya PCR ile moleküler olarak tanımlanabilir. Tipik bir izolat karbonhidratlarından asit oluşumaz ve ornitin

dekarboksilaz ve nitrataz pozitifdir. Tiplendirme arbitrarily primat PCR ve restriksiyon endonükleaz analizi ile ağız boşluğunda sabit olmayan polikloniteyi gösterecek şekilde yapılmaktadır (87).

3.3.12.5. *Kingella*

Kingella'lar kok veya küçük basiller halinde görülen, Gram negatif bakterilerdir. Bazen Gram değişken boyanabilir, hareketsiz, kirpiksiz, aerop veya fakültatif anaerop, oksidaz pozitif, katalaz negatif, glikoz'dan asit üretir, üreazları yoktur ve kolonileri kayma hareketi gösterebilir. *Kingella kingae* (*K.kingae*), *K.denitrificans*, *K.indologenes* türleri bulunur. Septik artrit, osteomyelit, spondilodiskit, bakteriyemi ve endokardit nedeni olarak bilinen bu türler daha az sıklıkla alt solunum yolu enfeksiyonları ve menenjit sebebi de olabilmektedirler (33)

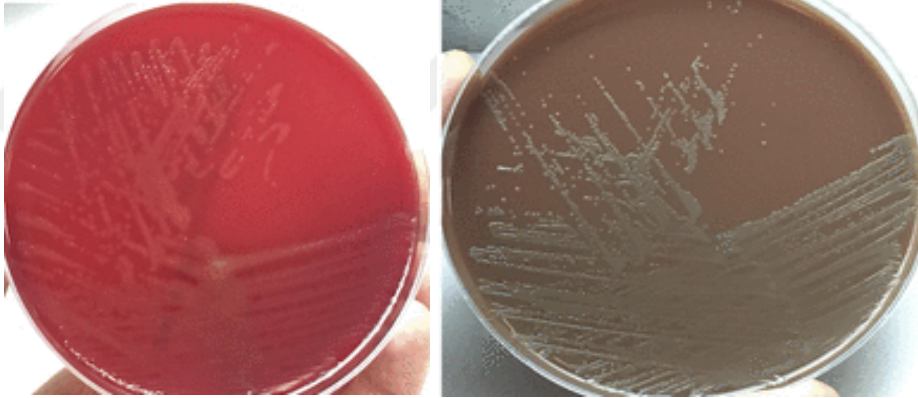
Kingella'lar Gram boyama ile beklenmedik bir şekilde renksizleşebilirler. Kültürlerinin 48 saatlik inkübasyonundan sonra koloniler 1-2 mm çapta ya düz ve merkezi bir papillaya sahip şekilde ya da yayılan kenarlar ve besiyerinde çukurlaşma oluşturarak ürerler (33). Şekil 8'de (A) *Eikenella corrodens* (Gram boyama); (B) *Kingella kingae*'nin Gram'laboyanma görüntüleri gösterilmiştir (33).



Şekil 8. (A) *Eikenella corrodens* (Gram boyama); (B) *Kingella kingae*'nin Gram preparatlarının mikroskopik görüntüleri (33).

Kingella kingae kanlı agarda, küçük ama belirgin hemoliz zonu oluşturur. CO₂ (%5-10) üremeyi artırır ve canlılık sınırlıdır. *K.kingae* kolonileri boğazda kolonize olurken, 6 aylık bebek ve 4 yaşa kadar çocukların nasofarinksinde bulunmaz. *K.kingae* enfeksiyonları sağlıklı olan 4 yaşın altındaki çocukların kemik ve eklemlerine yatkınlık gösterir (88).

Septik artrit, alt ekstremitte osteomyeliti ve gizli bakteriyemiye sebep olur. Olası viral hastalıklarla etkileşimi düşündürecek şekilde, sistemik enfeksiyon öncesinde stomatit ve/veya üst solunum yolu enfeksiyonları görülebilir. Erişkin enfeksiyonları daha çok immün sistemi baskılanmış kişilerde görülür veya endokardit etkeni olarak saptanabilir (88). Şekil 9'de *Kingella kingae*'nin kanlı ve çukolatamsı agardaki koloni görüntüsü gösterilmiştir (81-88).



Şekil 9. *Kingella kingae*'nin kanlı ve çukolatamsı agardaki koloni görünüşleri (81-88).

Kingella türlerine bağlı endokarditlerde, *K.kingae* en sık izole edilen türdür. *K.kingae* endokarditi çok genç çocuklarda daha sık görülür ve hastaların %40'ı 20 yaşından daha küçüktür. Bu hastaların yarısı normal kardiyak kapaklara sahipken, diğerleri Fallot tetralojisi veya mitral kapak prolapsı gibi konjenital kalp hastalıklarına sahiptirler. Daha yaşlı hastalarda, hastaların üçte birinde gözlenen prostetik kapak

değişimi en prevalan altta yatan kalp hastalığı faktörüdür. Zayıf dental hijyen ve oral cerrahinin enfeksiyonla ilişkili olduğu bildirilmiştir (33).

Bununla beraber, *Kingella* türleri özellikle tonsiller olmak üzere üst solunum yoluna baskın olarak kolonize olması ilginçtir. Primer bir patojen olmaktan ziyade, olası olarak, viral enfeksiyonlarla bozulmuş olan mukozal hasar yüzünden baskın olarak gözükmektedir. Böylece, stomatit, faranjit veya diğer varicella virusu ile indüklenmiş yanak ülserleriyle birlikte *Kingella* bakteriyemili çocuklarda *K.kingae* endokarditinde %16'lık bir fatalite hızı bildirilmiştir. Kardit, merkezi sinir sistemi embolisi, olguların %25'inde bildirilmiştir (33).

3.3.12.5.1. *Kingella* Türleri Tanı

Kingella kingae vücut sıvıları ve irinden saptanması zordur çünkü bu örneklerin bakteriye karşı inhibitör içerdiği görülmektedir. Ancak çeşitli kan kültürü besiyerleri kullanılması saptama oranını önemli oranda arttırmıştır (88).

Eklem sıvısı simule edilerek kan kültürü besiyeri kullanan bir çalışmada, BacT/Alert'in (BioMerieux, Inc, Durham, N.C.) BACTEC kan kültürlerine duyarlılık ve saptama zamanı dikkate alındığında daha üstün olduğu kanıtlanmıştır (89). Ancak klinik örneklerdeki karşılaştırmalı çalışmalar geçerlilik taşımamaktadır (90). Normal flora bölgelerinden izolasyon için klindamisin veya vankomisin içeren katı besiyerleri kadar Thayer-Martin agar da önerilmektedir. Kingellalar genellikle β -laktam antibiyotikler, makrolidler, doksisisiklin, trimetoprim-sulfametoksazol ve kinolonlara duyarlıdır (88). B-Laktamaz pozitif izolatlar bulunur; bunlar β -laktamaz inhibitör kombinasyonuna duyarlıdır (91, 81).

3.4. HACEK BAKTERİLERİNİN EUCAST Klinik Sınır Değerleri

3.4.1. *Haemophilus influenzae*

Mik saptama (ISO 20776-1 standardına göre sıvı mikrodilüsyon)

Besiyeri: Sıvı Mueller-Hinton + %5 lize at kanı ve 20 mg/L β -NAD (sıvı MH-F)

İnokulum: 5×10^5 KOB/mL

İnkubasyon: Kapatılmış paneller, normal atmosfer, $35 \pm 1^\circ\text{C}$, 18 ± 2 saat

Değerlendirme: Aksi belirtilmedikçe, görülebilir üremenin tamamen inhibe olduğu en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak değerlendirilir.

Kalite kontrol: *Haemophilus influenzae* ATCC 49799. Bu suş tarafından kapsanmayan antibiyotikler ve beta-laktam inhibitör kombinasyonlarının inhibitör bileşeni kontrolü için EUCAST KK tablolarına bakınız.

Disk difüzyon (EUCAST standart disk difüzyon yöntemi)

Besiyeri: Mueller-Hinton agar + %5 defibrine at kanı ve 20 mg/L β -NAD (MH-F)

İnokulum: McFarland 0.5

İnkübasyon: %5 CO_2 , $35 \pm 1^\circ\text{C}$, 18 ± 2 saat

Değerlendirme: Aksi belirtilmedikçe, inhibisyon zonu sınırı, yansıyan ışıkla aydınlatılmış ve kapağı açık plağa ön yüzünden bakıldığında üremenin bittiği nokta olarak kabul edilir.

Kalite kontrol: *Haemophilus influenzae* ATCC 49766. Bu suş tarafından kapsanmayan antibiyotikler ve beta-laktam inhibitör kombinasyonlarının inhibitör bileşeni disklerinin kontrolü için EUCAST kalite kontrol tabloları kullanılmaktadır.

Haemophilus influenzae için EUCAST’da belirlenen antibiyotik duyarlılık testinde kullanılabilecek antibiyotik grupları tablo 1, tablo 1, tablo 2, tablo 3, tablo 4 ve tablo 5’da gösterilmiştir (6).

Tablo 6. *Haemophilus influenzae* için penisilin grubu (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Antibiyotik Adı	MİK		Disk		Zon çapı
	Sınır değeri		İçeriği		Sınır değeri
Penisilinler	(mg/L)		(µg)		(mm)
	S ≤	R >		S ≥	R <
Benzilpenisilin (tarama)	-	-	1 ünite	12	-
Ampisilin	1	1	2	16	16
Ampisilin-sulbaktam	3,4	3,4	10-10	-	-
Amoksisilin	2	2	-	-	-
Amoksisilin-klavulanik asit	2	2	2-1	15	15

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 7. *Haemophilus influenzae* için sefalosporinler (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Antibiyotik Adı	MİK		Disk		Zon çapı
	Sınır değeri		İçeriği		Sınır değeri
Sefalosporinler	(mg/L)		(µg)		(mm)
	S ≤	R >		S ≥	R <
Sefepim	0.25	0.25	30	28	28
Sefiksım	0.125	0.125	5	26	26
Sefotaksim	0.125	0.125	5	27	27
Sefpodoksim	0.25	0.5	10	26	23
Seftibuten	1	1	30	25	25
Seftriakson	0.125	0.125	30	31	31
Sefuroksim iv	1	2	30	26	25
Sefuroksim oral	0.125	1	30	50	26

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 8. *Haemophilus influenzae* için tetrasiklinler (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Antibiyotik Adı	MİK		Disk	Zon çapı	
	Sınır değeri		İçeriği	Sınır değeri	
Tetrasiklinler	(mg/L)		(µg)	(mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Minosiklin	1	2	30	24	21
Tetrasiklin	1	2	30	25	22

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 9. *Haemophilus influenzae* için florokinolonlar (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Antibiyotik Adı	MİK		Disk	Zon çapı	
	Sınır değeri		İçeriği	Sınır değeri	
Florokinolonlar	(mg/L)		(µg)	(mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Moksifloksasin	0.125	0.125	5	28	28
Nalidiksik asit (tarama)	-	-	30	23	-
Ofloksasin	0.06	0.06	5	30	30

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 10. *Haemophilus influenzae* için karbapenemler (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Antibiyotik Adı	MİK		Disk	Zon çapı	
	Sınır değeri		İçeriği	Sınır değeri	
Karbapenemler	(mg/L)		(µg)	(mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Doripenem	1	1	10	20	20
Ertapenem	0.5	0.5	10	20	20
İmipenem	2	2	10	20	20
Meropenem ¹ (menenjit dışındaki enfeksiyonlar)	2	2	10	20	20

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 11. *Haemophilus influenzae* için diğer antibiyotikler (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Çeşitli Antibiyotikler	MİK		Disk	Zon çapı	
	Sınır değeri		İçeriği	Sınır değeri	
	(mg/L)		(µg)	(mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Kloramfenikol	2	2	30	28	28
Rifampisin (sadece profilaksi için)	1	1	5	18	18
Trimetoprim-sülfametoksazol ¹	0.5	1	1.25-23.75	23	20

(S:Duyarlı R: Dirençli).

3.4.2. *Aggregatibacter spp.*

MİK saptama (ISO 20776-1 standardına göre sıvı mikrodilusyon)

Besiyeri: Sıvı Mueller-Hinton

İnokulum: 5x10⁵ KOB/mL

İnkübasyon: Kapatılmış paneller, normal atmosfer, 35±1°C, 18±2 saat

Değerlendirme: Aksi belirtilmedikçe, görülebilir üremenin tamamen inhibe olduğu en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak değerlendirilir.

Kalite kontrol: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Bu suş tarafından kapsanmayan antibiyotikler için EUCAST KK tablolarına bakınız.

Disk difüzyon (EUCAST standart disk difüzyon yöntemi)

Besiyeri: Mueller-Hinton agar

İnokulum: McFarland 0.5

İnkübasyon: Normal atmosfer, 35±1°C, 18±2 saat

Değerlendirme: Aksi belirtilmedikçe, inhibisyon zonu sınırı, yansıyan ışıkla aydınlatılmış siyah bir zemin üzerinde plağa tersinden bakıldığında üremenin bittiği nokta olarak kabul edilir.

Kalite kontrol: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Aggregatibacter spp için EUCAST’da belirlenen antibiyotik duyarlılık testinde kullanılabilecek antibiyotik grupları tablo 7, tablo 8 ve tablo 9’da gösterilmiştir (6).

Tablo 12. *Aggregatibacter spp.* için karbapenemler (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Antibiyotik Adı	MİK		Disk	Zon çapı	
	Sınır değeri		İçeriği	Sınır değeri	
Karbapenemler	(mg/L)		(µg)	(mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Doripenem	1	2	10	24	21
İmipenem	2	8	10	23	17
Meropenem	2	8	10	21	15

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 13. *Aggregatibacter spp.* için florokinolonlar (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Antibiyotik Adı	MİK		Disk	Zon çapı	
	Sınır değeri		İçeriği	Sınır değeri	
Florokinolonlar	(mg/L)		(µg)	(mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Siprofloksasin	1	1	5	21	21
Levofloksasin	0.5	1	5	23	20

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 14. *Aggregatibacter spp.* için aminoglikozidler (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Antibiyotik Adı	MİK		Disk	Zon çapı	
	Sınır Değeri		İçeriği	Sınır değeri	
Aminoglikozidler	(mg/L)		(µg)	(mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Amikasin	8	16	30	19	17
Gentamisin	4	4	10	17	17
Netilmisin	4	4	10	16	16
Tobramisin	4	4	10	17	17

(S:Duyarlı R: Dirençli).

3.4.3. *Cardiobacterium hominis*

Cardiobacterium hominis için EUCAST’da belirlenen antibiyotik duyarlılık testinde kullanılabilecek antibiyotik grupları tablo 10’da gösterilmiştir

Tablo 15. *Cardiobacterium hominis* için antibiyotik grubu (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

<i>Cardiobacterium hominis</i>	MİK		Disk	Zon çapı	
	sınır değeri		İçeriği	Sınır değeri	
Antibiyotik Adı	(mg/L)		(µg)	(mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Ampisilin	1	2	2	16	16
Seftriakson	125	125	30	31	31
Sefotaksim	125	125	5	37	37
Siprofloksasin	1	1	5	21	21

(S:Duyarlı R: Dirençli).

3.4.4. *Eikenella corrodens*

Eikenella corrodens için EUCAST’da belirlenen antibiyotik duyarlılık testinde kullanılabilecek antibiyotik grupları tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 16. *Eikenella corrodens* için antibiyotik grubu (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

<i>Eikenella corrodens</i>	MİK		Disk	Zon çapı	
	Sınır Değeri		İçeriği	Sınır değeri	
Antibiyotik Adı	(mg/L)		(µg)	(mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Ampisilin	1	2	2	16	16
Seftriakson	125	125	30	31	31
Sefotaksim	125	125	5	37	37
Klromfenikol	2	2	5	28	28

(S:Duyarlı R: Dirençli).

3.4.5. *Kingella kingae*

MİK saptama (ISO 20776-1 standardına göre sıvı mikrodilüsyon)

Besiyeri: Sıvı Mueller-Hinton + %5 lize at kanı ve 20 mg/L β -NAD (sıvı MH-F).

İnokulum: 5×10^5 KOB/mL

İnkübasyon: Kapatılmış paneller, normal atmosfer, $35 \pm 1^\circ\text{C}$, 18 ± 2 saat. 16-20 saat inkübasyon sonunda yetersiz üreme gösteren suşlar hemen tekrar inkübe edilir ve inhibisyon zonları toplam 40-44 saat inkübasyonun ardından değerlendirilir.

Değerlendirme: Aksi belirtilmedikçe, görülebilir üremenin tamamen inhibe olduğu en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak değerlendirilir.

Kalite kontrol: *Haemophilus influenzae* ATCC 49799. Bu suş tarafından kapsanmayan antibiyotikler için EUCAST KK tablolarına bakınız.

Disk difüzyon (EUCAST standart disk difüzyon yöntemi)

Besiyeri: Mueller-Hinton agar + %5 defibrine at kanı ve 20 mg/L β -NAD (MH-F).

İnokulum: McFarland 0.5.

İnkübasyon: %5 CO_2 , $35 \pm 1^\circ\text{C}$, 18 ± 2 saat. 16-20 saat inkübasyon sonunda yetersiz üreme gösteren suşlar hemen tekrar inkübe edilir ve inhibisyon zonları toplam 40-44 saat inkübasyonun ardından değerlendirilir.

Değerlendirme: Aksi belirtilmedikçe, inhibisyon zonu sınırı, yansıyan ışıkla aydınlatılmış ve kapağı açık plağa ön yüzünden bakıldığında üremenin bittiği nokta olarak kabul edilir.

Kalite kontrol: *Haemophilus influenzae* ATCC 49766. Bu suş tarafından kapsanmayan antibiyotikler için EUCAST kalite kontrol tabloları kullanılmaktadır

Kingella kingae için EUCAST’da belirlenen antibiyotik duyarlılık testinde kullanılabilecek antibiyotik grupları tablo 12, 13, 14, 15, 16 ve 17’de gösterilmiştir

Tablo 17. *Kingella kingae* için sefalosporinler (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Antibiyotik Adı	MİK		Disk	Zon çapı	
	Sınır Değeri		İçeriği	Sınır değeri	
	(mg/L)		(µg)	(mm)	
Sefalosporinler	S ≤	R >	-	S ≥	R <
Sefotaksim	0.125	0.125	5	27	27
Seftriakson	0.06	0.06	30	30	30
Sefuroksim iv	0.5	0.5	30	29	29

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 18. *Kingella kingae* için karbapenemler (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Antibiyotik Adı	MİK		Disk	Zon çapı	
	Sınır Değeri		İçeriği	Sınır değeri	
	(mg/L)		(µg)	(mm)	
Karbapenemler	S ≤	R >		S ≥	R <
Meropenem	0.03	0.03	10	30	30

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 19: *Kingella kingae* için florokinolonlar (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Antibiyotik Adı	MİK		Disk	Zon çapı	
	Sınır Değeri		İçeriği	Sınır değeri	
	(mg/L)		(µg)	(mm)	
Florokinolonlar	S ≤	R >		S ≥	R <
Siprofloksasin	0.06	0.06	5	28	28
Levofloksasin	0.125	0.125	5	28	28

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 20. *Kingella kingae* için makrolidler ve linkozamidler (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Makrolidler ve linkozamidler	MİK			Disk	Zon çapı
	Sınır Değeri			İçeriği	Sınır değeri
	(mg/L)			(µg)	(mm)
	S ≤	R >		S ≥	R <
Eritromisin	0.5	0.5	15	20	20

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 21. *Kingella kingae* için tetrasiklinler (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018) (6).

Tetrasiklinler	MİK		Disk	Zon çapı
	Sınır değeri		İçeriği	Sınır değeri
	(mg/L)		(ug)	(mm)
Doksisiklin	0,5	0,5	-	-
Tetrasiklin	0.5	0.5	30	28

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 22. *Kingella kingae* için çeşitli antibiyotikler (EUCAST KK Tabloları v.8.0, 1.1.2018). (6).

Çeşitli Antibiyotikler	MİK sınır değeri		Disk İçeriği	Zon çapı Sınır değeri	
	(mg/L)		(µg)	(mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Rifampisin	0.5	0.5	5	20	20
Trimetoprim-sülfametoksazol ¹	0.25	0.25	1.25-23.75	28	28

(S:Duyarlı R: Dirençli).

4. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız, 1 Mayıs 2018-3 Mayıs 2019 tarihleri arasında, Fırat Üniversitesi Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Birimi, bakteriyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerinden kan kültürü istemi ile gelen aerobik ve/veya anaerobik kan kültürü şişelerinden yapıldı. Kan kültürü şişelerinin otomatik kan kültürü cihazına (BD, Bactec Fx, USA) yüklenmesinden sonra cihazın inkübasyon döneminde standart pozitif sinyal verme süresi olan beş (5) günün sonunda negatif olarak sonuçlanan 500 aerop ve/veya anaerop kan kültürü şişesi *HACEK* grubu bakteriler yönünden değerlendirmeye alındı.

4.1. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

Kan kültürü şişesi (aerop/anaerop, BD),

- %5 koyun kanlı Columbia Agar (BD, USA),
- Eozin-metilen mavisi agar (EMB, BD, USA),
- Çukolatamsı Agar (ÇA, BD, USA),
- Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin (BD, USA),
- Sabouraud Dekstroz Agar (SDA, BD, USA),
- X + V Factor Disk (BD, USA),
- EUCAST verilerinde belirtilen antibiyogram diskleri (BD, USA),
- Crystal Anaerobe ID Kit (Phoenix BD; USA),
- Crystal Neisseria/Haemophilus ID Kit (Phoenix BD, USA),
- GNI (Gram Negative Identification) ve GPI (Gram Positive Identification) ID tanımlama/antibiyotik duyarlılık kiti (Phoenix BD, USA),
- Yeast ID tanımlama kiti (Phoenix, BD),

- Phoenix 100 otomatik bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılık cihazı (Phoenix BD, USA),
- Bactec Fx kan kültür cihazı, BD, USA,
- Mikroskop.

4.2. Yöntem

Fırat Üniversitesi Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Birimi, bakteriyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerinden gelen (aerobik ve/veya anaerobik) kan kültürü şişeleri otomatik kan kültürü cihazına (BD, Bactec Fx, ABD) yüklendi. Otomatik kan kültürü cihazında beş günlük inkübasyon süresi sonucunda negatif çıkan kan kültürleri değerlendirilmeye alındı. Negatif kan kültür şişelerinden preparatları hazırlanarak Gram boyamaları yapıldı. Gram boyama sonucuna göre bakteri saptanmayan kan kültür şişeleri 35-37°C de etüvde 72 saat ek bir inkübasyon süresine tabi tutuldu. Bu süre sonunda kan kültürü şişelerinden %5 koyun kanlı Colombia agara (BD), EMB agara (BD), çukulatamsı agara (BD), IsoVitaleX and Bacitracinli çukulatamsı agara (BD) pasajları yapılarak aerop ortamda 35-37°C’de 24 saat; %5 koyun kanlı Colombia agara (BD) yapılan pasajları ise anaerop ortamda 35-37°C’de 24 saat inkübe edildi. Pasaj kültürünün 24 saatlik kültüründe üreme olmaması durumunda inkübasyon süresi 5 gün uzatıldı (Anaeroplarda günlük kontrol edilmeksizin 5 gün inkübe edildi) ve kültürler inkübasyon süresince, üreme varlığı yönünden günlük olarak kontrol edildi. Üreme saptanan plaklardan mikroskopik inceleme yapmak için preparatları hazırlanarak Gram boyamaları yapıldı. Mikroskopik inceleme sonucunda Gram (+) veya Gram (-) olarak saptanan mikroorganizmalar, tür düzeyinde tanımlanmak ve antibiyotik duyarlılık testi için, tam otomatik bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılık cihazına (BD Phoenix 100, ABD) yüklendi. Üreyen

mikroorganizmaların identifikasyonu konvansiyonel yöntemler (Gram boyama, katalaz, koagölaz, oksidaz vb.) ve Phoenix 100 ID (BD, Bactec Fx, ABD) tam otomatik bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılık cihaz ve kitleri kullanarak yapıldı.



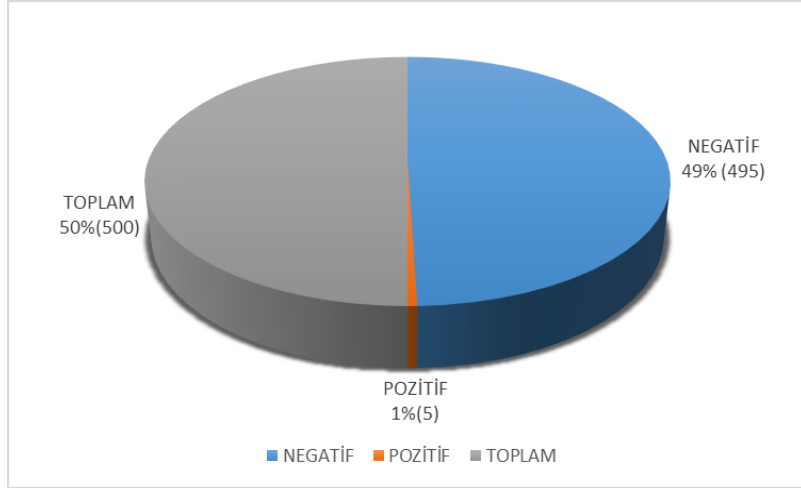
5. BULGULAR

Çalışmamız 1 Mayıs 2018-3 Mayıs 2019 tarihleri arasında, Fırat Üniversitesi Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Birimi, bakteriyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerinden gelen aerobik ve/veya anaerobik kan kültürü şişelerinden yapıldı. Kan kültürü şişelerinin otomatik kan kültürü cihazına (BD, Bactec Fx, USA) yüklenmesinden sonra cihazın inkübasyon döneminde standart pozitif sinyal verme süresi olan beş (5) günün sonunda negatif olarak sonuçlanan 500 aerop ve/veya anaerop kan kültürü şişesi *HACEK* grubu bakteriler yönünden değerlendirildiğinde beş (5) (%1) örnekte üreme saptanırken 495'inde (%99) üreme saptanamadı. Üreme saptanan beş örnekte birer tane olmak üzere; *K.kingae*, *P.aeruginosa*, *E.coli*, *Staph. epidermidis*, *Candida glabrata* (*C.glabrata*) üredi. Tablo 18'de 500 kan kültürünün üreme sonuçları gösterilmiştir.

Tablo 23. 500 kan kültürünün üreme sonuçları.

Kan Kültürü	Kan Kültürü Sonucu		
	Üreme Pozitif	Üreme Negatif	TOPLAM
	n (%)	n %	N %
	5 (1)	495 (99)	500 (100)

Şekil 10'da 500 kan kültürünün üreme sonuçlarının grafik olarak dağılımları gösterilmiştir.



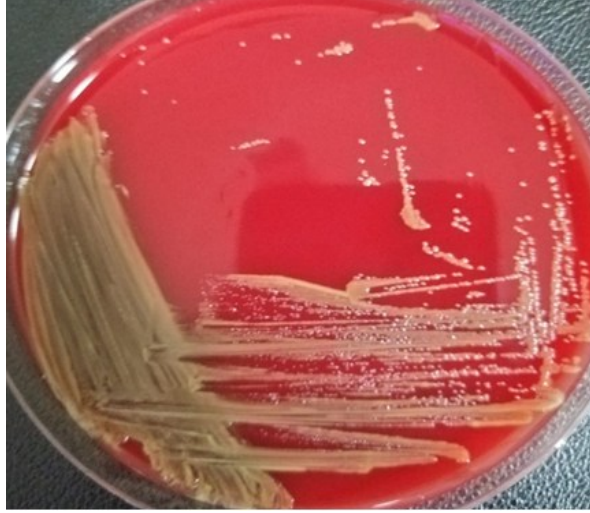
Şekil 11. 500 kan kültürünün üreme sonuçlarının grafik olarak dağılımları.

Tablo 24’da kültür de üreyen mikroorganizmaların cinsiyet, yaş, klinik ve kan kültürü şişesi tipine göre dağılımları gösterilmiştir.

Tablo 25. Kültür de üreyen mikroorganizmaların cinsiyet, yaş, klinik ve kan kültürü şişesi tipine göre dağılımları.

Mikroorganizma Adı	Sayı	Cinsiyet	Yaş	Klinik Adı	Kan Kültürü Şişesi Tipi Aerop/Anaerop
<i>K.kingae</i>	1	K	0	Çocuk(yeni doğan) Yoğun Bakım	Aerop
<i>P.aeruginosa</i>	1	K	5	Çocuk yoğun bakım	Aerop
<i>E.coli</i>	1	E	81	Dahili yoğun bakım	Aerop
<i>Staph.epidermitidis</i>	1	K	54	Anesteziyoloji yoğun bakım	Aerop
<i>C.glabrata</i>	1	K	74	Anesteziyoloji yoğun bakım	Aerop

Şekil 11’de *Kingella kigae*’nin %5 koyun kanlı Colombia agardaki koloni görünümü gösterilmiştir.



Şekil 12. *Kingella kigae*'nin %5 koyun kanlı Colombia agardaki koloni görünümü.

Tablo 20'de *Kingella kingea*'nin antibiyotik duyarlılık testi sonucu gösterilmiştir.

Tablo 26. *Kingella kingea*'nin antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

(<i>Kingella kingea</i>) Antibiyotik Adı	Duyarlılık
Siprofloksasin	S
Ampisilin	R
Amoksisilin/klavulanik asit	R
Meropenem	R
Penisilin	R
Rifampisin	R
Seftazidim	R
Seftriakson	R

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 21'de *Pseudomonas aeruginosa*'nın Antibiyotik duyarlılık testi sonucu gösterilmiştir.

Tablo 27. *Pseudomonas aeruginosa*’nın antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) Antibiyotik Adı	Duyarlılık
Aztreonam	R
Seftazidim	R
Kolistin	S
Siprofiloksasin	S
Sefoperazon-sulbaktam	S
Gentamisin	S
Amikasin	S
Piperasilin-tazobaktam	S
Meropenem	S

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 22’de *Candida glabrata*’nın antifungal duyarlılık testi sonucu gösterilmiştir.

Tablo 28. *Candida glabrata*’nın antifungal duyarlılık testi sonucu

(<i>Candida glabrata</i>) Antifungal Adı	Duyarlılık
Amfoterisin B	R
Itrakanazol	R
Vorokanazol	R
Flukanazol	R

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 23’de *Staphylococcus epidermidis*’in antibiyotik duyarlılık testi sonucu gösterilmiştir.

Tablo 29. *Staphylococcus epidermidis* 'in antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

(<i>Staphylococcus epidermidis</i>) Antibiyotik Adı	Duyarlılık
Gentamisin	S
Daptomisin	S
Fusidik asit	S
Linezolid	S
Ampisilin	R
Siprofloksasin	R
Amoksisilin-klavulanat	R
Erythromisin	R
Penisilin G	R
Tetrasiklin	R
Vankomisin	S

(S:Duyarlı R: Dirençli).

Tablo 24'de *Escherichia coli* 'nin antibiyotik duyarlılık testi sonucu gösterilmiştir.

Tablo 30. *Escherichia coli* 'nin antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

(<i>Escherichia coli</i>) Antibiyotik Adı	Duyarlılık
Amoksisilin-klavulanat	S
Ampisilin	S
Aztreonam	S
Sefepim	S
Seftazidim	S
Seftriakson	S
Sefuroksim	S
Meropenem	S
Gentamisin	S
Trimethoprim-Sulfametaksazol	S
Tigesiklin	S
Ertapenem	S
Imipenem	S
Piperasilin	S

S:Duyarlı R: Dirençli).

6. TARTIŞMA

Kan dolaşımı enfeksiyonlarının tanısı, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının en acil ve önemli işlerinden biridir. Kan dolaşımı enfeksiyonlarının ancak %35’inde kan kültürleri pozitif sonuçlansa da bu yöntem etkenin izole edilmesinin yanı sıra antimikrobiyal duyarlılık testlerinin de yapılmasına olanak sağladığı için halen altın standarttır. Gerçek etkenlerin saptanması ve tüm pozitif bulguların olabildiğince hızlı bir şekilde klinisyene bildirilmesi, ampirik tedaviden etkene yönelik tedaviye geçiş süresini azaltarak morbidite ve mortaliteyi doğrudan etkilemektedir (6).

Klinik mikrobiyoloji uzmanının bu konudaki sorumluluğu sadece laboratuvarda kan kültürleri ile ilgili işlemlerin yapılması ile sınırlı değildir. Aynı zamanda, doğru endikasyonlar ile uygun miktarda örneğin antisepsi kurallarına uyularak ile alınması ve laboratuvara doğru bir şekilde transferinin sağlanması gibi preanalitik süreçler ile laboratuvarda kan kültürü üremelerinin doğru bir şekilde değerlendirilerek raporlanması gibi postanalitik süreçler, tıbbi mikrobiyoloji uzmanının en önemli görevleri arasında bulunmaktadır. Bu nedenle kan kültürleri ile ilgili kalite göstergeleri sürekli olarak izlenmeli ve gerektiğinde doğru uygulamaların yapılmasını sağlamak için kan kültürlerinin alınışı ve laboratuvarda yapılan işlemler ile ilgili eğitimler verilmelidir (6).

Kan kültürleri, bakteriyemi, fungemi, enfektif endokardit ve nedeni bilinmeyen ateşin tanısı için son derece önemlidir. Ayrıca; protez enfeksiyonları (eklem, vasküler greft vb.), kateter ile ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları (KİKDE), pnömoni, septik artrit ve osteomyelit gibi enfeksiyonların tanısında da kan kültürleri önemli bir yere sahiptir (109).

Kan kültürlerinde patojenin mümkün olduğunca en kısa süre içinde tesbit edilmesi, tedaviye zamanında başlanmasına olanak sağlayarak mortaliteyi de önemli oranda azaltmaktadır (92).

Toplumda ileri yaş grubunun artması, kronik hastalığı olanların yaşam sürelerinin uzaması, bağışıklığı baskılayan ilaçların yaygın kullanılması ve tanı ile tedavi amaçlı invazif girişimlerdeki artış infeksiyon riskinin de artışına neden olmaktadır (92).

Yeni geliştirilen kan kültürü sistemleri hızlı ve kullanışlı sistemlerdir. Bu yüzden geniş kullanım alanları bulmuşlardır. Son yıllarda yapılan çalışmalara ve uygulanan tanı yöntemlerindeki yeni gelişmelere rağmen bakteremi ve fungeminin tanısında kan kültürleri, halen tek hızlı ve güvenilir yöntem olma özelliğini korumaktadır. BACTEC (Becton Dickinson, florometrik sistem) ve BacT/Alert (BioMeireux, kolorimetrik sistem) kan kültürü sistemleri, sepsis tanısı için laboratuvarlarda en çok kullanılan otomatize kan kültürü sistemleridir. Hasta kanındaki mikroorganizmaların saptanması, tanı açısından önemli olduğu gibi, hastanın tedavisi ve hastalığın seyiri açısından son derece önemlidir. Kan kültürü pozitif olan hastalarda ölüm hızının, kan kültüründe üreme olmayan negatif olan hastalardan 12 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır (109).

Laboratuvar tarafından kandan mikroorganizmaların başarılı izolasyonu, örnek alma yöntemi, baktereminin tipi, alınan kan örneğinin miktarı, kan örneklerinin sayısı ve zamanlaması, sonuçların yorumlanması ve laboratuvarın hizmet ettiği hasta yoğunluğunun tipine bağlıdır (93).

Washington ve arkadaşlarının 5.000 pozitif kan kültüründe yaptıkları bir çalışmada alınan kan hacmiyle kan kültürü hassasiyetinin doğru orantılı olarak arttığı saptanmıştır (92).

Otomatize kan kültür sistemlerinin kullanıma girmesi son yıllarda klinik mikrobiyoloji alanındaki en önemli gelişmelerden birini oluşturmuştur. Klasik kan kültür yöntemleri zaman alıcı ve yorucudur. Günümüzde yaygın kullanılan otomatize sistemler ise laboratuvarın iş yükünü azaltması, kontaminasyonu azaltması, hatalı-pozitif sonuç sayısını düşürmesi ve mikroorganizma belirleme hızı ve mikroorganizma sayısının arttırması bakımından faydalı olmuştur. Otomatize sistemler değişik sensörler aracılığıyla CO₂ üretimini, bazı sistemlerde buna ek olarak O₂ ve H₂ yoğunluklarındaki farklılıkları takip eder (93).

Durmaz ve arkadaşlarının 5 günlük inkübasyon süresinde 5148 kan kültürlerinde yaptıkları değerlendirmede, %45.73 üreme elde edildiği, bunun %29.60'ının kontaminasyon, %24,67'sinin anlamlı üreme olduğu gözlemlenmiştir (94). Araştırmada en sık izole edilen bakterilerin *Klebsiella*, KNS, *E.coli* ve *Pseudomonas* olarak saptamışlardır (94). Çalışmamızda cihazın inkübasyon döneminde standart pozitif sinyal verme süresi olan beş (5) günün sonunda negatif olarak sonuçlanan 500 aerop ve/veya anaerop kan kültürü şişesi HACEK grubu bakteriler yönünden değerlendirildiğinde beş (5) (%1) örnekte üreme saptanırken 495'inde (%99) üreme saptanamamıştır.

Baylan ve arkadaşları ise kan kültürlerinden tesbit edilen Gram-negatif aerobik bakterileri 5 günlük inkübasyondan sonra değerlendirdikleri araştırmalarında 1268 kültürün 233'ünde (%18.4) gerçek pozitiflik saptadıklarını, bunların %15.9'unun

nonfermentatif ve %66.1'inin fermentatif Gram negatif bakterilerden oluştuğunu saptamışlardır (95).

Serap ve ark. İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2003 yılında gönderilen kan örnekleri, BACTEC 9050 kan kültür sistemi ile incelenmiş. İncelenen 1252 hastaya ait kan kültürlerinin 157 tanesinde yani yaklaşık %12,5'inde etken üremenin olduğu gözlemlenmiştir. Gram pozitif koklar %54, Gram negatif basiller %41, Brucella türleri %4, maya mantarları ise %1 oranında izole edilmiştir. Gram pozitif etkenlerin %85'i stafilokok türleri ve Gram negatif etkenlerin %80'i Enterobacteriaceae üyesi bakteriler olduğu tesbit edilmiştir (96). Tüm bu çalışmalarda kan kültürü pozitif sonuç vermesi ile saptanan bakteriler standart inkübasyon süresince değerlendirilen kan kültüründen izole edilmiştir. Çalışmamızda HACEK grubundan sadece *K.kingae* 'yi saptarken, negatif şişelerin inkübasyon süresi uzatılmasından sonra rutin olarak kolay üreyen *P.aeruginosa*, *E.coli*, *Staph.epidermitidis* ve *C.glabratayı* da ürettik. Buradan standart beş günlük inkübasyon süresinin çeşitli nedenlere bağlı olarak (Örn: mevcut bakteri miktarı, kanın miktarı vs gibi nedenlerle) yeterli olmadığı, rutin olarak özellikle inkübasyon süresinin uzatılması gerektiği sonucuna varıldı.

Asrat ve arkadaşları 1996-1998 yılları arasında Addis Ababa, Etiyopya'da erişkin hastalardan izole ettikleri 238 bakterinin 103'ünün en yüksek sıklıkla KNS'ler (%43.3) olduğunu, takiben *S.aureus* (%14.3), *Klebsiella spp.* (%9.8), *E.coli* (%8.1), *Pseudomonas spp.* (%6.7), *Acinetobacter spp.* (%5.0) ve *Salmonella spp.* (%3.8) izole ettiklerini; Gram pozitif bakterilerin tüm kan isolatlarının %62.6 'sını oluşturduğunu bildirmişlerdir (97).

Beltran ve arkadaşlarının üç yıllık bir süredeki pozitif kan kültürlerinin klinik ve epidemiyolojik özelliklerini belirledikleri araştırmalarında en sık patojen olarak *S.aureus* (%23.5), takiben KNS (%14.5), *E.coli* (%14.0), *Strep.pneumonia* (%8.7), *Enterococcus* (%5.5) ve *P.aeruginosa* (%5.5)'nın izole edildiği bildirilmiştir (98). Çalışmamızda kan kültürün 7. gününde *P.aeruginosa* ve *E.coli* türlerini saptayabildik.

Martin ve ark. Yoğun bakımları kapsayan çalışmaların da ise *Pseudomonas*, *E.coli*, *Acinetobacter* ve *Klebsiella* daha sık izole edilmiştir (99,100).

Coşkun ve ark. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2016 ve Aralık 2017 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen kan kültürü örnekleri retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Toplam 2894 kan kültüründe üreme tespit edilmiştir. Kan kültürü örnekleri BACT/ALERT 3D (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) otomatize sisteminde beş gün inkübe edilmiştir. Pozitif sinyal veren şişelerden kanlı agar ve EMB besiyerine ekilerek 37°C'de aerob ortamda 18-24 saat inkübe edilmiştir. Üreyen mikroorganizmaların identifikasyonu konvansiyonel yöntemler (Gram boyama, katalaz, koagülaz, oksidaz vb.) ve VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) kullanarak yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 621 kan kültürü örneğinin 399'unda (% 64.3) Gram negatif bakterilerin, 192'sinde (% 30.9) Gram pozitif bakterilerin, 30'unda (% 4.8) ise mayaların ürediği görülmüştür. En sık izole edilen Gram negatif bakterilerin sırasıyla *E.coli* ve *A.baumannii* olduğu görülmüştür. En sık izole edilen Gram pozitif bakterilerin *Enterococcus spp.* ve *S.aureus* olduğu saptanmıştır. Mayalar içerisinde en sık *C.albicans*'ın etken olarak tanımlandığı tespit edilmiştir (101).

Halil ve ark. Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Eylül 2011 ile Ağustos 2013 tarihleri arasında yatan hastalardan alınan 4262 kan kültürü çalışmaya dâhil edilmiştir. Kan kültürü örnekleri BACT/ALERT 3D (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) otomatize sistemi ile 5 gün inkübe edilmiştir. *Brucella* şüphesi olan örneklerin inkübasyonu 10 güne uzatılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 4262 kan kültüründen 765 (%17.9)'i sepsis etkeni olarak değerlendirilmiştir. Bu izolatların identifikasyonları ve antibiyogram çalışmaları yapılmıştır. Üreme olan örneklerden 495 (%64.7)'i gram pozitif bakteri, 245 (%32.0)'i gram negatif bakteri ve 25 (%3.3)'i *Candida* türleri olarak tespit edilmiştir (102).

Sağlam ve ark. Ocak 2010- Eylül 2013 tarihleri arasında Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi yenidoğan yoğunbakım ünitelerinde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımı yenidoğan yoğun bakım ünitelerinden, mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 6116 kan kültürü otomatize kan kültürü sistemi ile değerlendirilmiştir. Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinden gelen 6116 kan kültür örneğinin 324'ünde (%5.3) kontaminasyon; 315'inde (%5.2) klinik açıdan anlamlı üreme tespit edilmiştir. Üreme tespit edilenlerin 248'inden (%78.7) Gram pozitif bakteriler ve 58'inden (% 18.4) Gram negatif enterik ve nonfermenter bakteriler, birinden (%0.3) *H.influenzae*, sekizinden (%2.5) *Candida spp.* izole edilmiştir. En sık üreyen mikroorganizmaların %70.8 ile koagülaz negatif stafilokoklar olduğu görülmüştür. Gram pozitif bakterilerin %4.4'ünde *S.aureus* saptanmıştır (103). Çalışmamızda *K.kingae* ve *Candida glabrata* kan kültürünün 7.gününde saptanmıştır.

Gülfem E. ve ark. 30.05.2012-29.01.2013 tarihleri arasında İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi Medicalpark Hastanesi'nin çeşitli birimlerinden Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen kan örnekleri, BacTAlert (Biomérieux, Fransa) kan kültür

sistemi ile incelenmiştir. Negatif sinyal veren şişeler kanlı agara pasaj yapılarak yalancı negatiflik açısından değerlendirilmiştir. Pozitif sinyal veren şişelerden Gram boyası yapılmış ve koyun kanlı, EMB besiyerlerine pasajlar alınarak aerop koşullarda 37°C’de inkübe edilmiştir. 2148 kan kültürünün 327 tanesinden pozitif sinyal alınmıştır. Aynı kişiye ait olan 93 ve cilt florası ile kontamine olan 47 örnek (toplam 140 örnek) çalışma dışı tutulmuştur. Böylece hepsi farklı hastaya ait olan 187 izolat çalışmaya alınmıştır. Çalışmaya alınan toplam 187 izolatın 52 (%27.8)’sinin Gram negatif bakteri, 133 (%71.1)’ünün Gram pozitif bakteri ve ikisinin de (%1.06) *C.albicans* olduğu saptanmıştır (104).

Rıza ve ark. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesinde (HÜTFEH) BACTEC 9240 sistemi ile yapılan 927 kan kültürünün %20.5’inde pozitif üreme saptanmıştır. 1 Ocak-31 Aralık 2001 tarihleri arasında değerlendirilen toplam 2341 kan kültürünün 449 (%19.2)’u pozitif kültür, 1861 (%79.5)’i negatif kültür olarak saptanmıştır (105) .

Tuncer ve ark. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesinde kan örnekleri ile yapılan çalışmada, *S.aureus* ve KNS’lar, Gram negatif enterik basiller, *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* en çok izole edilen bakteriler olarak tesbit edilmiştir (106).

Töreci ve ark. BACTEC NR-730 sistemi ile yaptıkları çalışmada, *Enterobacteriaceae* ailesi, *S.aureus* ve KNS’ları en sık izole edilen mikroorganizmalar olarak tespit etmişlerdir (107).

Gülmez ve ark. Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’na 2000-2011 yılları arasında gönderilen kan kültürleri incelenmiştir. Kültürde üreyen mikroorganizmalar ve yıllara göre değişimleri değerlendirilmiştir. Belirtilen sürede toplam 49561 kan kültürü laboratuvara

ulaşmıştır. Kültürlerden 7773' nde (%15.7)  reme görülmüştür. Üreyen mikroorganizmaların % 68.8 'ini gram pozitif bakteriler, %20.4' n  gram negatif bakteriler, %10.8'ini ise mantarlar olduğu tesbit edilmiştir. En sık üreyen mikroorganizmaların %48.1 ile koag laz negatif stafilokoklar oldukları g r lm ştir. Üreyen mantarlar arasında %47.3 ile *C.albicans* ilk sırada, %21.7 ile *Candida parapsilosis* (*C.parapsilosis*) ikinci sırada yer almıştır (108).

Hastanemizde elde etmiş olduğumuz verilere göre son iki yılda (2017-2018) kan kültüründe sıklıkla izole edilen bakteriler ve mayalar sırasıyla aşağıda verilmiştir:

- *A.baumanii*,
- *A.baumanii/calcoaceticus complex*,
- *C.albicans*,
- *Candida spp.*,
- *E.coli*,
- *Enterococcus spp.*,
- *K.pneumoniae*,
- *Koagülaz Negatif Staphylococcus (KNS)*,
- *P.aeruginosa*,
- *S.aureus*,
- *S.capitis*,
- *S.epidermidis*,
- *S.hominis*,
- *Streptococcus spp.*

2017 yılında yayımlanan “Klinik örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberi, Kan dolaşımı Örnekleri kılavuzu”nda, inkübasyon süresi ve sıcaklığı otomatize kan kültürü sistemlerinde klinik önemi olan mikroorganizmaların hemen hepsi için beş günlük inkübasyon süresi yeterlidir. Bu süre, *HACEK* grubu bakteriler, *Brucella* türleri ve nütrisyonel varyant streptokoklar (*Abiotrophia/Granulicatella* türleri) olmak üzere birçok güç üreyen bakterinin üremesi için de uygun olduğu açıklanmıştır. Bazı endokardit olgularında, antimikrobiyal tedavi alan hastalarda, dimorfik mantarların etken olduğu mantar enfeksiyonu şüphesi varlığında ya da güç üreyen bakterilerle olan bir enfeksiyon düşünülüyorsa, standart inkübasyon süresi içinde üreme saptanamayabilir. Bu durumda bile, inkübasyon süresini uzatmak gereksizdir. Bunun yerine, şişelerden bu mikroorganizmaların üretilmesini destekleyecek özel besiyerlerine pasajyapılmalı ve pasajlar uygun koşullarda inkübe edilmelidir (109).

Klavuza göre yavaş üreyen bakteriler arasında yer alan *HACEK* grubu bakterilerin sebep olduğu endokardit şüphesinde kültürlerin beş günün sonunda hala negatif ise, inkübasyon süresi uzatılması ya da yeni pasajların yapılması gerektiği vurgulanmıştır (109). Yine klavuzda negatif sinyal veren şişelerden kör ya da son pasaj otomatize sistemlerde inkübasyon süresi sonunda üreme olmayan şişelerden rutin olarak yapılması önerilmez. Ancak; *Neisseria* türleri, *Brucella* türleri, *Francisella* türleri, *H.influenzae*, *HACEK* grubu bakteriler ve *Legionella* türleri gibi bazı güç üreyen mikroorganizmalar ile *P.aeruginosa* ve *Candida* türleri kan kültüründe üreme belirtisi vermeden üreyebilir. Klinik bulguları ya da öyküsü bu organizmaları düşündüren hastalarda inkübasyon süresi sonunda kan kültürlerinden uygun besiyerlerine kör pasaj yapılabilir (109).

HACEK grubu: *Haemophilus* türleri, *A.actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium* türleri, *E.corrodens* ve *Kingella* türleri bu grupta yer alır. Otomatize sistemlerde sıklıkla inkübasyon süresinin sonuna doğru ürerler. Pasajlarında üremesi yavaştır, üreme olmadığını söylemek için pasajlarının beş güne kadar inkübe edilmesi önerilmektedir (109).



7. SONUÇ

Sepsise bağlı morbiditenin ve mortalite çok yüksek olması nedeniyle hastanın tedavisi sırasında doğru tanı önemli kriterdir. Bu sebeple altın standart olarak uygulanması gereken ilk test “Kan Kùltürü”dür. Kanda bulunan enfeksiyon; titreme, düşük veya yüksek ateş, hızlı nefes alma, artan nabız veya çarpıntı, kas ağrıları ile kendini göstermektedir. Bu sepsis sonucu zihinde bulanıklık, azalmış idrar, baş dönmesi, baş ağrısı, ciltte döküntü ve hatta organ yetmezliğine kadar ilerleyen olaylar meydana gelebilir. Bu bulguların bulunduğu hastanın tedavi edilebilmesi için tanının doğru ve hızlı birşekilde tesbit edilmesi gerekir. Bu tanıyı koymak için, zaman kaybetmeden hekimler kan kùltürü istemi yapması zorunludur. Bu nedenle kanın rol oynadığı enfeksiyonlarının saptanmasında, kan kùltürü en önemli ve kolay bir yöntemdir.

Çalışmamızda özet olarak aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı;

- Hasta kanında ki mikroorganizmaların saptanmasında en hızlı, ekonomik ve güvenilir yöntemin kan kùltürü olduğunu,
- Otomatize kan kùltürü sistemlerinde belirlenen inkübasyon süresinin kolay üreyen bakterilerde dahi uzatılması gerekliliğine,
- Ve ayrıca otomatize kan kùltürü sistemlerinde belirlenen inkübasyon süresinin bazı zor üreyen bakteriler için yetersiz olduğuna ve negatif sonuç için belirlenen inkübasyon süresinin yeniden gözden geçirilmesi için çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Cohen J. The immuno pathogenesis of sepsis. *Nature*, 2002; 420: 885-891.
2. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word “sepsis”. *Intensive Care Med*. 2006; 32: 2077.
3. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin*, 2009; 25: 83-101.
4. Johnson GB, Brunn GJ, Samstein B, Platt JL. New insightin to the pathogenesis of sepsis and the sepsis syndrome. *Surgery*, 2005; 137: 393-395.
5. Francoeur JR. Joseph Lister: surgeon scientist (1827–1912). *J Invest Surg*. 2000; 13: 129-132.
6. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Kan Kültürü Uygulama Kılavuzu, Ankara, 2013.
7. Didier P, NingLi, Robert FW, Richart PW. Microbiological factor sinfluencing the outcome of nozocomial blood-stream infections. *Clin Infect Dis*. 1997; 24: 1068-78.
8. Palabıyıkoglu İ. Nazokomiyal bakteriyemilerde laboratuvar tanı: Kan kültürü alma endikasyon ve teknikleri. *Hastane İnfeksiyonları Eğitim Programında* 2003; 20-27.
9. Forbes BA, Sahm F, Weisfeld AS. *Bailey&Scott’s Diagnostic Microbiology*. 11th ed. Missouri: Mosby, 2002; 865-83.
10. Tabriz MS, Riederer K, Baran JJ, Khatib R. Repeating blood cultures during hospital stay: practicepatern at a teaching hospitaland a proposal for guidelines. *Clin Microbiol Infect*, 2004; 10: 624-7.
11. Mylotte JM, Tayara A. Blood culture: clinical aspects and controversies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000; 19: 157-63.
12. Melek T, Işıl ÖT, Alparslan A, Zehra NB, Ünase B, Kan Kültürü Alma Yonergesi 2015.
13. Serpil E, Zülal Ö, Ülkü A, Mehmet P, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hatahanelerinde 2001 Yılında Gözlenen Hastahane İnfeksiyonları. *Hastane İnfeksi Derg*. 1998; 2: 15-19.
14. Akalın H. Sepsis tanımlar, tanı, Etyoloji ve Epidemiyolojide Yeni Gelişmeler 3.Ulusal Yoğun Bakım İnfeksiyonları.Simpozyumu, 18 Mayıs-20 Mayıs 2007- Nevşehir, 7.
15. Al-Juaid A, Walkty A, Embil J, Crockett M, Karlowsky J. Differential time topositivity: vascular catheter drawn cultures for the determination of catheterre lated blood stream infection. *Scand. J Infect Dis*. 2012 Oct; 44 (10): 721-5.
16. Ataman Hatipoğlu C, Ipekkan K, Oral B, Onde U, Bulut C, Demiröz AP. Assessment of diagnostic methods for the catheter-related blood stream infections in intensive care units. *Mikrobiyol Bül*. 2011; 45 (1): 75-85.

17. Barenfanger J, Drake C, Kacich G. Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. *J Clin Microbiol.* 1999; 37 (5): 1415–1418.
18. Beekmann SE, Diekema DJ, Chapin KC, Doern GV. Effects of rapid detection of blood stream infections on length of hospitalization and hospital charges. *J Clin Microbiol.* 2003; 41 (7): 3119–3125.
19. Beekmann SE, Henderson DK. Infections caused by percutaneous intravascular devices. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Elsevier, Churchill-Livingstone Inc. Philadelphia, 2010: 3497-715.
20. Hall MM, Ilstrup DM, Washington JA. Effect of volume of blood cultured on detection of bacteremia. *J Clin Microbiol.* 1976; 3: 643-5.
21. Tenney JH, Reller B, Mirret S, Wang LL, Weinstein MP. Controlled evaluation of the volume of blood cultured in detection of bacteremia and fungemia. *J Clin Microbiol.* 1982; 15: 558-61.
22. Baron, EJ. MP. Weinstein, WM. Dunne, Jr., P. Yagupsky, DE. Welch ve DM. Wilson. Cumited:1 C, Blood Cultures IV. Coordinating cd., Baron. ASM Press, Washington, D.C. 2005;1482-42.
23. Chandrasekar PH, Brown WJ. Clinical issues of blood cultures. *Arch Intern Med.* 1994;154: 841-9.
24. 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.
25. Mermel LA, Maki DG. Detection of Bacteremia in Adults: Consequences of Culturing an Inadequate Volume of Blood. *Ann Intern Med.* 1993; 19: 270-2.
26. Roberts FJ. The value of these cond blood culture. *J Infect Dis.* 1993; 168: 795-6.
27. Baron EJ, Weinstein MP, Dunne WM Jr, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed. Baron EJ. ASM Press, Washington, D.C.2005;16:386-28.
28. Bouza E, Alvarado N, Alcalá L, Pérez MJ, Rincón C, Muñoz P. A randomized and prospective study of 3 procedures for the diagnosis of catheter-related blood stream infection without catheter with drawal. *Clin Infect Dis.* 2007; 44 (6): 820-6.
29. Baron EJ, Thomson R B: Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology,” J Versalovic, K C Carroll, J H Jorgensen, G Funke, M L Landry, D W Warnock (eds): *Manual Clin Microbiol.* “ 10. Ed. 2011; 228-271, ASM Press, Washington D.C.

30. Youssef D, Henaine R, DiFilippo S. Subtle bacterial endocarditis due to *Kingella kingae* in an infant: a case report. *Cardiol Young*. 2010; 20: 448-50.
31. Vance G, Fowler JR, W. Michael Scheld W, Bayer W, Bayer AS. Endocarditis and Intravascular Infections. *Mandell*. 2010; 1067.
32. Raza SS, Sultan OW, Sohail MR. Gram-negative bacterial endocarditis in adults: state-of-the-heart. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010; 8: 879-85.
33. Brouqui P, Raoult D. Endocarditis Due to Rare and Fastidious Bacteria. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14 (1): 177-207.
34. Raza SS, Omer W Sultan OW, Sohail MR. Gram negative bacterial endocarditis in adults: state of the heart. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2010; 8: 879-885.
35. Akova M, Çetinkaya Y. Enfektif Endokardit, Miyokardit, Perikardit. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları. 3.Baskı/Cilt 1 2008; 45-61.
36. Olsen, L, Dewhirst FE., Paster BJ, Busse HJ. Family Pasteurellaceae Pohl In D.J. Brenner NR. Krieg JT, Staley, and GM. Garrity (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed, vol.2. The Proteobacteria, Springer-Verlag, New York, N.Y. 2005; 1981, 382; 851-856.
37. Kilian, M. *Haemophilus Winslow*, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers and Smith In Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT and Garrity GM (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed. vol.2. The Proteobacteria, Springer-Verlag, New York, N.Y. 2005; 1917, 561, 883-904.
38. Norskov L, Bruun NB, Kilian M. Multilocus sequence phylogenetic study of the genus *Haemophilus* with description of *Haemophilus pittmaniae* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2005; 55: 449-456.
39. Kilian, MA. Taxonomic study of the genus *Haemophilus* with the proposal of a new species. *J Gen Microbiol*. 1976; 93: 9-62.
40. Faden HL, Duffy A, Williams DA, Krystofik A Wolf M. Epidemiology of nasopharyngeal colonization with nontypeable *Haemophilus influenzae* in the first 2 years of life. *J Infect Dis*. 1995, 172:132-135.
41. Kilian M, Poulsen K, Lomholt H. Evolution of the paralogous hsp and ig genes in *Haemophilus influenzae*: evidence for a conserved hsp pseudogene associated with microcolony formation in the recently diverged *Haemophilus aegyptius* and *H. influenzae* biogroup *aegyptius*. *Mol Microbiol*. 2002; 46: 1367-1380.
42. Murphy TF, Brauer AL, Schinmacker AT, Sethi S. Persistent colonization by *Haemophilus influenzae* in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 170: 266-272.

43. Raymond JL, Armand-Lefevre F, Moulin H, Dabemat A, Commeau D, Berche P. Nasopharyngeal colonization by *Haemophilus influenzae* in children living in an orphanage. J Pediatr Infect Dis. 2001; 20: 779-784.
44. Turk DC. The pathogenicity of *Haemophilus influenzae*. J Med Microbiol. 1984; 18: 1-16.
45. Adams WG, Deaver KA, Cochi SL, Plikaytis BD, Zeil ER, Broome CV, Wenger D. Decline in childhood *Haemophilus influenzae* type b (Hib) disease in the vaccine era. JAMA. 1996; 269: 221-226.
46. Centers for Disease Control and Prevention. Impact of vaccine universally recommended for children United States. Morb Mortal Wkly Rep. 1999-1990-1998; 48: 243-248.
47. Peltola H. World wide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century: global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. Clin Microbial Rev. 2000; 13: 302-317.
48. Nasciomento Carvalho CM. Etiology of childhood community acquired pneumonia and its implications for vaccination. Braz J Infect Dis. 2001; 5: 87-97.
49. Falla, TJ, Dobson SR, Crook DW, Kraak WA, Nichols WA, Anderson EC, Jordens JZ, Slack MP, Mayon-White D, Moxon D. Population based study of non typeable *Haemophilus influenzae* invasive disease in children and neonates. Lancet. 1993; 341: 851-854.
50. O'Neill JM, St. Geme III JW, Cutter D, Adderson EE, Anyanwu J, Jacobs RE, Schutze GE. Invasive disease due to nontypeable *Haemophilus influenzae* among children in Arkansas. J Clin Microbiol. 2003; 41: 3064-3069.
51. Murphy TF. Respiratory infection caused by nontypeable *Haemophilus influenzae*. Curr Opin Infect Dis. 2003; 16: 129-134.
52. Quentin RR, Ruimy A, Rosenau J, Musser M, Christen R. Genetic identification of cryptic genotype species of *Haemophilus causinguro* genital and neonatal infections by PCR using specific primer targeting genes coding for 16S rRNA. J Clin Microbiol. 1996; 34: 1380-1385.
53. Wallece RJ, Baker CJ, Quinones FJ, Hollis DG, Weaver RE, Wiss K. Nontypeable *Haemophilus influenzae* (biotype 4) as a neonatal, maternal and genital pathogen. Rev Infect Dis. 1983; 5: 123-135.
54. Albritton WL. Infections due to *Haemophilus* species other than *H. influenzae*. Annu Rev Microbiol. 1982; 36: 199-216.

- binding protein 3 with β -lactam resistance in β -lactamase negative ampicillin resistant *Haemophilus influenzae*. Antimicrob. Agents Chemother. 2001; 45: 1693-1699.
66. Karlowsky JA, Critchley IA, Blosser-Middleton RS, Karginowa EA, Jones ME, Thorsberry C, Sahm DF. Antimicrobial surveillance of *Haemophilus influenzae* in the United States during 2000-2001 lead to detection of clonal dissemination of a β -lactamase negative and ampicillin resistant strain. J Clin Microbiol. 2002; 40: 1063-1066.
 67. Jacobs MR, Bajaksouzian S, Zilles A, Lin G, Pankuch GA, Appelbaum PC. Susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* to 10 oral antimicrobial agents based on pharmacodynamic parameters: 1997 U.S. surveillance study. Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43: 1901-1908.
 68. Doern GV, Jones RN, Phaller MA, Kugler K. The Sentry Participants Group *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* from patients with community acquired respiratory tract infections: antimicrobial susceptibility patterns from the Sentry Antimicrobial Surveillance Program (United States and Canada, 1997). Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43: 385-389.
 69. Murray R. *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Kingella*, and other fastidious rarely encountered gram negative rods, In: Murray R, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover RH (ed.), Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM Press, Washington, D.C. 1999; 561-569.
 70. Nonnemaker C, Murray R, Flores de Jacoby L. Microbiological characteristics of subgingival microbiota in adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and rapidly progressive periodontitis subjects. Clin Microbiol Infect. 2001; 7: 213-217.
 71. Kaplan AH, Weber DJ, Oddone EZ, Perfect JR. Infection due to *Actinobacillus actinomycetem comitans*: 15 cases and review. Rev Infect Dis. 1989; 11: 46-63.
 72. Paju S, Carlson P, Jousimies-Somer H, Asikainen S. *Actinobacillus actinomycetem comitans* and *Haemophilus aphrophilus* in systemic and non oral infections in Finland. APMIS. 2003; 111: 653-657.
 73. Slots J. Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetem comitans*. J Clin Microbiol. 1982; 15: 606-609.
 74. Paju S, Carlson P, Jousimies H, Somer S, Asikainen S. Heterogeneity of *Actinobacillus actinomycetem comitans* strains in various human infections and relationships between serotype, genotype and antimicrobial susceptibility. J Clin Microbiol. 2000; 38: 79-84.
 75. Kugler KC, Biedenbach DJ, Jones RN. Determination of the antimicrobial activity of 29 clinically important compounds tested against fastidious HACEK group organisms. Diagn Microbiol Infect Dis. 1999; 34: 73-76.

76. Madinier LM, Fosse TB, Hitzig C, Charbit Y, Honnoun LR. Resistance profile survey of 50 periodontal strains of *Actinobacillus actinomycetem comitans*. J Periodontal. 1999; 70: 888-892.
77. Slots J, Evans RT, Lobbins PM, Genco RJ. Invitro antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus actinomycetem comitans*. Antimicrob Agents Chemother. 1980;18: 9-12.
78. Raza SS, Sultan OW, Sohail MR. Gram negative bacterial endocarditis in adults: state of the heart. Expert Rev Anti Infect Ther. 2010; 8: 879-85.
79. Babinchak TJ. Oral ciprofloxacin therapy for prosthetic valve endocarditis isdueto *Actinobacillus actinomycetem comitans*. Clin Infect Dis. 1995; 21: 1517–1518.
80. Walkty A. *Cardiobacterium hominis* endocarditis: A casereport andreview of the literature. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2005; 16 (5): 293-297.
81. Slotnick IJ. *Cardiobacterium hominis* in genitourinary specimens. J Bacteriol. 1968; 95: 1175.
82. Mualler N, Kaplan J, Zbinden R, Altwegg M. Diagnosis of *Cardiobacterium hominis* endocarditis by broad range PCR fromarterio embolictissue. Infection .1999; 27: 278-279.
83. Nikkari SR, Gotoff PP, Bourbeau RE, Brown N, Kamal R, Relman DA. Identification of *Cardiobacterium hominis* by broad range bacterial polymerase chain reaction analysis in a case of culture negative endocarditis. Arch Intern Med. 2002; 162: 477-479.
84. Lu PL, Hsueh PR, Hung CC, Teng LJ, LJ. Jang LJ, Luh KT. Infective endocarditis complicated with progressive heart failure due to β -lactamase producing *Cardiobacterium hominis*. J Clin Microbia. 2000; 38: 2015-2017.
85. Goldstein EJ, Agyare CEO, Silletti R. Comparative growth of *Eikenella corrodens* on 15 media in three atmospheres of incubation. J Clin Microbiol. 1981; 13: 951-953.
86. Mahapatra A, Mishra S, Pattnaik D, Pattnaik K. Bacterial endocarditis due to *Eikinella corrodensa* casereport. Indian JMedical Microbiol, 2003; 21(2).135-136.
87. Brouqui P, Raoult D. Endocardit isduetorare and fastidious bacteria. Clin Microbiol Rev. 2001; 14: 177-207.
88. Yagupsky P. *Kingella kingae*: from medical rarity to an emerging paediatric pathogen. Lancet Infect Dis. 2004; 4: 358-367.
89. Host B, Schumacher H, Prag J, Arpi M. Isolation of *Kingella kingae* from synovial fluid susing four commercial blood culture bootles. Eur J Clin Microbial Infect Dis. 2000; 19: 608-611.

90. Moumile K, Merckx J, Glorian C, Berche P, Ferroni A. Osteo articular infections caused by *Kingella kingae* in children: contribution of polymerase chain reaction to the microbiologic diagnosis. J Pediatr Infect Dis. 2003; 22: 837-839.
91. Minamoto GY, Sordillo EM. *Kingella denitrificans* as a cause of granulomatous disease in a patient with AIDS. Clin Infect Dis. 1992; 15: 1052-1053.
92. 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.
93. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn, Jr WC (eds). Color Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Philadelphia, New York: Lippincott, 1997: 154-62.
94. Durmaz G, Bolatlı T, Ünver Y, Akgün Y. 5148 Kan Kültürünün Retrospektif Değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 1993; 23: 164-7.
95. Baylan O, Saraçlı MA, Sarıcı SÜ, Doğanç L. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Gram Negatif Aerob Bakteriler Ve İn vitro Antibiyotik Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi. Gülhane Tıp Derg. 1999; 41: 305-11.
96. Serap S, Şenay Ö, Ayten C, Onur Ö, Meltem A. BACTEC Kan Kültürü Sistemi İle İzole Edilen Mikroorganizmaların Değerlendirilmesi İnfeksiyon Dergisi 2007; 21:3 135-141.
97. Asrat D, Amanuel YW. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of bacterial isolates from blood culture in Tikur Anbas Hospital, Addis Ababa, Ethiopia. J Ethiop Med. 2001; 39: 97-104.
98. Beltran MA, Rodriguez E, Sorvik D, et al. Clinical and epidemiological study of adult patients with positive blood cultures. Medicine. 2002; 62: 13-9.
99. Aube H, Milan C, Blettery B. Risk factors for septic shock in the early management of bacteremia, Am J Med. 1991; 93 (3): 283-8.
100. Martin MA. Epidemiology and clinical impact of gram negative sepsis. Infect Dis Clin. 1991; 5 (4): 739-752.
101. Umut ŞC. Kan Kültürlerinde Üreyen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları. Ankem Derg. 2018; 32 (2): 45-52.
102. Halil E, Gülşah A, Özlem Y, Cengiz D, Recep K. Kan Kültürlerinde İzole Edilerek Tanımlanan Mikroorganizmaların ve Antibiyotik Direnç Oranlarının Belirlenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2015; 45 (1): 48-54.
103. Derya S, Barış DE, Gülhan Y, Hatice T, Hürmet Ö. Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi Yenidoğan Yoğunbakım Ünitelerinde Kan Kültürlerinden İzole Edilen Mikroorganizmaların Dağılımı. Abant Med J. 2015; 4 (3): 255-260.

- 104.** Gülfem E. Kan Kùltürlerinde Üreyen İzolatların Dağılımı ve Antibiyotik Duyarlılık Profiline İncelenmesi. Haseki Tıp Bùlteni. 2013; 51 (4): 151-156.
- 105.** Rıza A, Nilgün YD, Gülboy D. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kan Kùltürlerinin BacT/ALERT Sistemi ile Retrospektif Olarak Araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2003; 33: 219-224.
- 106.** Tuncer D, Gültekin M, Öngüt G, Şekercioğlu AO, Er D, Erkılıç M, Çolak D. BACT/ALERT Otomatize Kan Kùltürü Sistemi İle Alınan Sonuçların Değerlendirilmesi. İnfeks Derg. 1996; 10: 351.
- 107.** Töreci K, Gürler N, Karayay S. Kan Kùltürlerindeki Üremenin BACTEC NR- 730 Hemokùltür Cihazı Ve Klasik Yöntemlerle Saptanması. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 1993; 23: 226.
- 108.** Dolunay G, Deniz G. Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi'nde 2000-2011 Yılları Arasında Kan Kùltürlerinden İzole Edilen Mikroorganizmalar;12 Yıllık Değerlendirme, J Pediatr Inf. 2012; 6: 79-83.
- 109.** Ahmet Başustaoğlu Kan Kùltürü Uygulama Kılavuzu. Ankara 2013.

9. ÖZGEÇMİŞ

1992 Elazığ doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2014 yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldum. 2012-2016 yılları arasında Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında Biyolog olarak görev yaptım.

