



Kan Dışındaki Normalde Steril Vücut Sıvılarının Kültürü İçin Klasik Yöntemler İle BacT/Alert Kan Kültür Sisteminin Karşılaştırılması

Çiğdem Kuzucu*, Melek Ayan*, Bengül Durmaz*

*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD, Malatya

Bakteriyemi ve fungemilerin saptanması için otomatize kan kültür sistemleri kullanılmaktadır. Bu çalışmada kandan başka diğer steril vücut sıvılarında mikroorganizmaların saptanması için, bu sıvıların BacT/Alert kan kültür sistemine yapılan kültürleri ile klasik yöntem olan Petri plaklarındaki besiyerlerine yapılan kültürleri karşılaştırılmıştır. Çalışmaya plevra, beyin omurilik sıvısı (BOS), periton sıvısı ve sinoviyal sıvıyı içeren 91 örnek alınmıştır. BacT/Alert kan kültür sistemiyle anlamlı üremelerin 18'i (%95) saptanırken, klasik kültür yöntemiyle sadece 11'i (%58) saptanabilmıştır.

Anahtar kelimeler: Steril Vücut Sıvıları, BacT/Alert Kan Kültür Sistemi

Comparison of BacT/Alert Blood Culture Systems With Conventional Methods for Culturing Normally Sterile Body Fluids Other Than Blood.

Automated blood culture systems have been used for the detection of bacteremia and fungemia. In this study, we compared BacT/Alert blood culture system and conventional culture methods for culture of sterile body fluids other than blood. A total of 91 specimens were tested including pleural, peritoneal, synovial and cerebrospinal fluids. Of the isolates considered clinically significant, 18 (95 %) were recovered by BacT/Alert system while only 11 (58%) were recovered by conventional culture methods.

Key words: Sterile Body Fluids, BacT/Alert Blood Culture System

Menenjit, ampiyem, peritonit ve septik artrit gibi pek çok invaziv ve yaşamı tehdit eden infeksiyon, steril vücut sıvılarının kültürlerinin yapılmasıyla saptanabilir. Bu infeksiyonlar sıklıkla zor veya yavaş üreyen mikroorganizmalar tarafından oluşturulur ve klasik kültür yöntemleriyle saptanamaz. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında kan örnekleri için yaygın olarak otomatize kan kültür sistemleri kullanılmaktadır.²⁻⁴ Otomatize kan kültür sistemleri çok çeşitli mikroorganizma ve mayaların kısa sürede saptanmasına olanak verir.^{3,5} Bu çalışmada laboratuvara gönderilen kan dışındaki steril vücut sıvılarında mikroorganizmaları kısa sürede saptamak için otomatize kan kültür sisteminin kullanılması ve rutin yöntemle kıyaslanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya laboratuvarımıza rutin olarak gönderilen kan dışındaki steril vücut sıvıları alındı. Bu örneklerin 36'sı plevra, 34'ü beyin omurilik sıvısı (BOS), 16'sı periton sıvısı ve 5'i sinoviyal sıvıydı. Örnek volümlerinin az olması nedeniyle pediatrik kan kültür şişeleri kullanıldı. Bu örneklerin yaklaşık 0.5 ml'si pediatrik BacT/Alert şişelerine ekildi. Kalan miktar santrifüj edilerek, dipteki çökeltiden kanlı triptik soy agar, çikolata, Eosin methylene blue (EMB) ve Saboraud besiyerlerine kültürler yapıldı ve preparatlar hazırlanarak Gram yöntemi ile boyandı. Kültür plakları 35 ° C'de 48 saat etüvde (aerop ve CO₂'li ortamda) inkübe edildi. Gram boyamada lökosit ve bakteri varlığı değerlendirilerek not edildi. Kültürlerde üreyen bakteriler klasik yöntemlerle tanımlandı.⁶ İsimlendirilemeyen örneklerde Sceptör (Becton Dickinson) otomatize sistem veya API (BIOMERIEUX) çalışıldı. Kan kültür şişelerine yapılan kültürler yedi gün takip edildi. Üreme sinyali veren şişelerden, klasik yöntemde kullanılan besiyerlerine subkültürler ve Gram boyama yapıldı. Üreyen bakterilerin tanımlanmaları klasik yöntemdeki gibi yapıldı.

BULGULAR

Gönderilen 91 örneğin 22'sinde ya rutin tanıda kullanılan besiyerlerinde veya kan kültür sisteminde üreme gözlenmiştir. Bunlardan üçü kontaminant bakteri olarak değerlendirilmiştir. Kan kültür sistemiyle anlamlı üremelerin 18'i (% 95) saptanabilirken, klasik kültür yöntemiyle sadece 11'i (%58) saptanabilmiştir. BOS, periton sıvısı ve plevral sıvıdan yapılan ekimlerde bakteriyel üreme görülen kültürlerin sayısı tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo I. Steril vücut sıvılarında klasik yöntem ve BacT/Alert kan kültür sisteminde bakteri üreyen kültür sayısı

| İnceleme Örneği | Klasik yöntem | BacT/Alert sistemi |
|---------------------|---------------|--------------------|
| BOS (34) | 2 | 5 |
| Periton sıvısı (16) | 3 | 4 |
| Plevral sıvı (36) | 6 | 9 |
| Sinoviyal sıvı (5) | - | - |
| Toplam (91) | 11 | 18 |

Klasik yöntem ve BacT/Alert sisteminde üreyen bakteriler tablo II'de gösterilmiştir.

Tablo II. Klasik yöntem ve BacT/Alert sistemiyle izole edilen mikroorganizmaların dağılımı

| Organizma | Klasik yöntem | BacT/Alert sistemi |
|-----------------------------|---------------|--------------------|
| S.aureus | 3 | 6 |
| Koagülaz negatif stafilokok | 2 | 5 |
| E.coli | 1 | 3 |
| Acinetobacter türleri | 1 | - |
| K.pneumoniae | 1 | 1 |
| Enterokok türleri | 1 | 1 |
| Corynebacterium türleri | 2 | 2 |
| Toplam | 11 | 18 |

Üreme olan 19 örneğin Gram boyamalarının değerlendirilmesi sonucu 12'sinde lökosit görülmüş, 7'sinde görülmemiştir.

TARTIŞMA

Steril vücut sıvılarında mikroorganizma üremesi sıklıkla ciddi infeksiyonların göstergesidir. Mikrobiyolojik kültür için kabul edilen normalde steril vücut sıvılarından mikroorganizmaların izole edilmesi problemlidir. Mikroorganizmaların üretilmesini engelleyen pek çok faktör vardır. Periton sıvısı, asit mayi, devamlı ambulator periton diyaliz örnekleri gibi fazla volümlü örnekler sıklıkla çok az mikroorganizma içerir ve örnekte mikroorganizmayı konsantre etmek için çeşitli işlemler yapmak gerekir. Serebrospinal sıvı, sinoviyal sıvı gibi steril vücut sıvılarında ise örnek miktarı genellikle çok az olduğundan bu materyallerde mikroorganizmanın izole edilme şansı daha düşüktür. Ayrıca hastaya

verilen antibiyotikler de mikroorganizma üremesini engellemektedir. Zor üreyen bakteriler uygun besiyeri ve zenginleştirici maddeler kullanılmazsa üretilmeyebilir.^{6,7} Bundan dolayı bu örneklerde hızlı ve dikkatli mikrobiyolojik değerlendirme önem taşır.

Önceki yıllarda kandan başka diğer steril vücut sıvıları için kan kültür şişelerinin kullanımı önerilmemektedir. Bununla birlikte sinoviyal sıvı, BOS ve periton sıvıları için kan kültür şişelerinin veya buyyon sistemlerinin kullanılması, direkt olarak rutin kullanımdaki besiyerlerine ekim ile birlikte tavsiye edilmektedir.⁸ Singh ve ark.'nın yaptığı çalışmada spontan bakteriyel peritonitin saptanmasında BACTEC kan kültür sistemi ile klasik yöntemler karşılaştırılmış, BACTEC kan kültür sistemi streptokokların saptanmasında klasik yöntemlerden daha iyi bulunmuştur.⁹ Başka bir çalışmada BACTEC sisteminin steril vücut sıvılarından klinik olarak anlamlı mikroorganizmaların saptanmasını artırdığı gösterilmiştir.⁷ Steril vücut sıvılarından mikroorganizmaların saptanmasında klasik yöntemlerle BacT/Alert standart ve FAN kan kültür şişelerinde ki üremeler karşılaştırılmış, klasik kültür yöntemi ile standart şişeler arasında bir fark gözlenmezken, FAN şişelerden elde edilen mikroorganizmaların rutin kültürden ve standart şişelerden izole edilenden daha fazla olduğu görülmüştür.¹⁰ Aynı şekilde Simor ve ark. BacT/Alert FAN şişelerini kullandıklarında Gram pozitif mikroorganizmaların anlamlı olarak yüksek oranda saptandığını bulmuşlar, fakat bunun yanısıra kontaminant bakterilerin de FAN şişelerinde daha fazla oranda saptandığını belirtmişlerdir.¹ Fuller ve Davis BACTEC sisteminde klasik yöntemle göre daha fazla mikroorganizmayı izole ettiklerini belirtmiş ve klasik yöntemle alternatif olabileceğini bildirmişlerdir. Buna karşın BACTEC sisteminin maliyetinin yüksek olması, steril vücut sıvılarının önce steril kaplara alınarak daha sonra BACTEC şişelerine aktarılmasının kontaminasyon oranını artırdığını belirtmişlerdir.¹¹ Sinoviyal sıvı örneklerinde kan kültür şişelerinin kullanılmasıyla ilgili yayınlar sınırlıdır. Yagupsky ve ark.'ı çocuk hastaların sinoviyal sıvılarının kültürü için rutin kültüre ilave olarak BACTEC sistemini de kullanmışlar, *Kingella kingae* hariç diğer genel mikroorganizmaların her iki yöntemde de saptanabildiğini, *Kingella kingae*'yi ise sadece BACTEC sisteminde saptadıklarını belirtmişlerdir.¹² Sorlin ve ark.'ı steril vücut sıvılarının kültürü için zenginleştirme buyyonları ve BACTEC kan kültür şişelerini karşılaştırmışlar ve kan kültür sisteminin aerobik mikroorganizmaların izolasyonunda daha duyarlı olduğunu bulmuşlardır. Bununla birlikte kan kültür şişelerine kan ilave

Kan Dışındaki Normalde Steril Vücut Sıvılarının Kültürü İçin Klasik Yöntemler İle BacT/Alert Kan Kültür Sisteminin Karşılaştırılması

edilmediği zaman X ve V faktöre bağımlı *Haemophilus influenzae* ve *Haemophilus parainfluenzae*'nin üremediği saptanmıştır.^{13,14} Özakin ve ark.'ı *Listeria monocytogenes* üretmek için BOS, plevra, periton ve kan gibi örnekleri BACTEC kültür şişelerine ekerek takip etmişler ve bu örneklerden 16 *L. monocytogenes* izole etmişlerdir.¹⁵ Süzük ve ark.'ı periton, plevra, perikard ve eklem sıvısı gibi steril vücut sıvılarını BacT/Alert kan kültür sistemine ekmişler ve % 49'u Gram pozitif, % 51'i Gram negatif olmak üzere toplam 208 adet aerob bakteri izole etmişlerdir.¹⁶

Çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer şekilde BacT/Alert kan kültür sisteminde klasik kültür yöntemine göre daha fazla sayıda mikroorganizma saptanmıştır.

Sonuç olarak steril vücut sıvılarının kültürünün yapılması tedaviye yol göstermesi açısından faydalıdır. Kan kültür sistemleri örnek tipi, hasta popülasyonu, laboratuvar maliyeti, klinik fayda analizi gibi kriterler göz önünde bulundurularak materyallerin direkt mikroskopileri yapılmak koşuluyla steril vücut sıvılarının kültürü için kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. Simor AE, Scythes K, Meaney H, Louie M. Evaluation of the BacT/Alert microbial detection system with FAN aerobic and FAN anaerobic bottles for culturing normally sterile body fluids other than blood. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 37: 5-9.
2. Murray PR, Hollick GE, Jervis RC, Wilson M. Multicenter comparison of BACTEC and BACTEC 9240 blood culture systems. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1601-3.
3. Reisner BS, Woods GL. Times to detection of bacteria and yeasts in BACTEC 9240 blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2024-26.
4. Jørgensen JH, Mirrett S, McDonald LC et al. Controlled clinical laboratory comparison of BACTEC plus aerobic/F Resin medium with BacT/Alert aerobic FAN medium for detection of bacteremia and fungemia. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 53-8.

5. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *J Clin Microbiol* 1997; 10: 444-65.
6. Isenberg H. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. American Society for Microbiology Washington DC. 1992; 1.8.
7. Fuller AD, Davis TE, Kibsey PC, Rosmus I, Ayers LW, Ott M, Saubolle MA, Sewell DL. Comparison of BACTEC plus 26 and 27 media with and without fastidious organism supplement with conventional methods for culture of sterile body fluids. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1488-91.
8. Forbes BA, Granato PA. Processing specimens for bacteria. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover FC, Tenover RH, (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington 1995; 271.
9. Singh N, Rihs JD, Gayowski T, Micles L, Yu VL. Improved detection of spontaneous bacterial peritonitis with Bactec as compared with conventional culture methods. A prospective study. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994; 19: 1-4.
10. Bourbeau P, Riley J, Heiter BJ, Master R, Young C, Pierson C. Use of the BacT/Alert blood culture system for culture of sterile body fluids other than blood. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3273-77.
11. Fuller DD, Davis TE. Comparison of Bactec plus aerobic/F, anaerobic/F, peds plus/F and lytic/F media with and without fastidious organism supplement to conventional methods for culture of sterile body fluids. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1997; 29: 219-25.
12. Yagupsky P, Dagan R, Howard CW, Einhorn M, Kassis I, Simu A. High prevalence of *Kingella kingae* in joint fluid from children with septic arthritis revealed by the Bactec blood culture system. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1278-81.
13. Sorlin P, Mansoor I, dayaran C, Struelens MJ. Comparison of resin containing Bactec plus aerobic/F medium with conventional methods for culture of normally sterile body fluids. *J Clin Microbiol* 2000; 49: 787-91.
14. Pennekamp A, Zbinden R, Graevenitz AV. Detection of *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus parainfluenzae* from body fluids in blood culture bottles. *J Microbiol Methods* 1996; 25: 303-7.
15. Özakin C, Akalın H, Erbek S. ve ark. Steril örneklerden izole edilen *Listeria monocytogenes* üremelerinin değerlendirilmesi 1999;29: 51-53.
16. Süzük S, Çayırıt A, Balaban N ve ark. Steril vücut sıvılarından izole edilen aerob bakteri türleri ve antibiyotik duyarlılıkları 2002; XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre kitabı: 278.

Yazışma Adresi:

Dr. Çiğdem Kuzucu
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD
44069 Malatya
Tel : 422 341 0660-4808
E-mail : ckuzucu@inonu.edu.tr