

## BRUSELLOZDA KAN VE KEMİK İLİĞİ KÜLTÜRLERİNİN TANI DEĞERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

COMPARISON OF THE DIAGNOSTIC VALUE OF BLOOD AND  
BONE MARROW CULTURES IN BRUCELOSIS

*Sevgül İŞERİ\**, *Cemal BULUT\**, *Meltem Arzu YETKİN\**  
*Sami KINIKLI\**, *Ali Pekcan DEMİRÖZ\**, *Necla TÜLEK\**

**ÖZET:** Bu çalışmada, 2002-2004 yılları arasında hastanemizde takip edilen brusellozlu hastalarda kan ve kemik iliği kültür pozitiflik oranlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya alınan 102 hastanın (62 erkek, 40 kadın; yaş ortalaması:  $39 \pm 5$  yıl) %60'ı akut, %28'i subakut, %12'si kronik bruselloz olarak değerlendirilmiştir. Hastaların yatışlarında alınan kan ve kemik iliği kültürleri için BACTEC 9050 sistemi kullanılmıştır. Ortalama izolasyon süresinin kan kültürü için 5.8 gün, kemik iliği kültürü için ise 4.2 gün olduğu belirlenmiştir. Kan kültürlerinin 49'undan (%48), kemik iliği kültürlerinin ise 35'inden (%34) *Brucella spp.* izole edilmiş ve bu oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Akut brusellozlu 61 olgunun 40'ında (%66) kan kültürü, 28'inde (%46) ise kemik iliği kültürü pozitif olup, kemik iliği kültür pozitifliği saptanan olguların 23'ünde kan kültürü de pozitif, beşinde ise negatiftir. Subakut 29 olgunun dokuzunda (%31) kan kültürü, altısında (%21) kemik iliği kültürü pozitif bulunurken, kronik brusellozlu 12 hastanın hiçbirisinin kan kültüründe üreme olmamış, birisinin (%8) kemik iliği kültürü pozitif sonuç vermiştir. Standart tüp aglütinasyon titrelerine göre gruplandırılan (1.grup; 1/160-1/640, 2.grup; 1/1280-1/2560) hastalar arasında kan ve kemik iliği kültür pozitiflikleri karşılaştırıldığında, ikinci grupta saptanan yüksek kültür pozitiflik oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Önceden bruselloza yönelik tedavi aldığı öğrenilen 27 hastanın 19'unda (%70) kan ve/veya kemik iliği kültürlerinde üremenin saptanmış olması ise, yetersiz süre ya da uygun olmayan ilaç kombinasyonlarının kullanımına bağlanmıştır. Sonuç olarak, özellikle kronik olgularda kan kültüründen bakteri izolasyonu olasılığının düşük olacağı göz önüne alınırsa, travmatik bir girişim olsa bile kemik iliği kültürünün yapılmasının gerektiği düşünülmüştür.

*Anahtar sözcükler: Bruselloz, tanı, kemik iliği kültürü, kan kültürü.*

\* Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara.

**ABSTRACT:** The aim of this study was to compare the rates of brucellosis revealed by blood and bone marrow (BM) cultures obtained from patients followed up in our hospital, between 2002-2004 period. A total of 102 patients (62 male, 40 female; mean age:  $39 \pm 5$  years) were included to the study and 61 of them were in acute, 29 were in subacute, and 12 were in chronic stages of brucellosis. Blood and BM samples collected from all of the hospitalized patients were cultured by using the BACTEC 9050 system. The mean isolation period for BM cultures was 4.2 days, whereas it was 5.8 days for blood cultures. Overall the rate of positive blood cultures in brucellosis cases was found as 48% (n: 49), while the rate was 34% (n: 35) for BM cultures, and the difference was statistically significant ( $p < 0.05$ ). Blood and BM culture positive results were detected in 40 (66%) and 28 (46%) of acute brucellosis cases, respectively. BM culture positive 23 samples yielded positive blood culture, while five were negative. These rates were found as 31% (n: 9), and 21% (n: 6) for subacute acute brucellosis cases, respectively. On the other hand *Brucella spp.* could not be isolated from blood cultures of 12 chronic cases, however, one (8%) was positive for BM culture. The patients were grouped according to their standard tube agglutination (STA) test results (group 1: 1/160-1/640, group 2: 1/1280-1/2560 STA titers), and when comparing these groups for their positive blood and BM culture results, the high rate in group 2 was found statistically significant ( $p < 0.05$ ). Nineteen (70%) of 27 patients who had previously received specific brucellosis therapy were positive for blood and/or BM cultures, indicating insufficient use of antibiotics, or the use of inappropriate antibiotic combinations. It was concluded that, since the rate of positive blood cultures were low in especially chronic brucellosis cases, bone marrow cultures should be obtained for the definite evaluation of these patients.

*Key words: Brucellosis, diagnosis, bone marrow culture, blood culture.*

## GİRİŞ

Bruselloz, dünyada ve ülkemizde yaygın olarak görülen bir zoonozdur. Brusellozun tanısı, öykü, klinik ve serolojik bulgular ve etkenin üretilmesi ile konulmaktadır. Etkenin kan kültüründe üreme olasılığı akut dönemde oldukça yüksek iken, subakut dönemde daha nadirdir. Buna karşın kronik olgularda ve daha önce antibiyotik kullananlarda, kan kültüründe *Brucella* türlerinin üretilme şansı çok daha düşüktür. Özellikle bu tip olgular başta olmak üzere, kan kültürlerinin negatif olduğu durumlarda, kemik iliği kültürünün yapılması önerilmektedir<sup>1</sup>.

Bu prospektif çalışmada, Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği'nde klinik ve serolojik olarak bruselloz tanısı konulan olgularda kan ve kemik iliği kültür pozitiflik oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Ekim 2002-Şubat 2004 tarihleri arasında S.B Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği'nde yatırılarak bruselloz tanısı ile izlenen 102 hasta dahil edildi. Tanı; klinik bulguların

yanı sıra standart tüp aglütinasyon (STA) testinde  $\geq 1/160$  titrede pozitiflik saptanması ve/veya kan kültüründe *Brucella spp.* üremesi ile konuldu. Olgulardan 27'sinin kliniğimize başvurmadan önce başka merkezlerde bruselloz tedavisi aldığı öğrenildi.

Olguların hepsinden tedaviye başlamadan önce en az üç kan kültürü ve bir kez kemik iliği kültürü alınarak, BACTEC plus Aerobic/F (Becton Dickinson and Company Sparks, MD 21152) kan kültür besiyerine ekildi ve Bactec 9050 sisteminde 21 gün inkübe edildi. Pozitif alarm veren kan kültürleri, insan kanlı agar ve EMB (Eosin Metilen Blue) besiyerlerine pasajlanarak 37°C'de 48 saat inkübe edildi. EMB'de üremeyen, kanlı agarda 2-3 mm çapında, şeffaf, parlak, pigmentsiz ve hemoliz yapmayan S tipi kolonilerden Gram boyama, oksidaz, katalaz ve üre deneyi yapıldı. Gram negatif, hareketsiz, oksidaz, katalaz ve üreaz pozitif olanlar *Brucella spp.* olarak değerlendirildi.

Yakınma süresi 8 haftadan az olanlar akut, 8-52 hafta arası subakut, 52 haftadan daha fazla olanlar kronik bruselloz olarak değerlendirildi<sup>2</sup>.

Verilerin değerlendirilmesinde "SPSS 10.0 for Windows" programından yararlanıldı, istatistiksel yöntemler olarak " $\chi^2$ " "Fisher's Exact Test" ve "t-test" kullanıldı.

## B U L G U L A R

Çalışmaya alınan 102 hastanın 62'si (%61) erkek, 40'ı (%39) kadın olup, yaş ortalamaları  $39 \pm 5$  yıl (yaş aralığı: 15-75 yıl)'dır. Hastaların 61'i (%59.8) akut, 29'u (%28.4) subakut, 12'si (%11.8) kronik bruselloz olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada, toplam pozitiflik oranının kan kültürlerinde %48, kemik iliği kültürlerinde ise %34.3 olduğu saptanmıştır. Hastaların evrelerine göre kan ve kemik iliği pozitiflikleri Tablo I'de görülmektedir. Akut olgularda kan kültür pozitiflik oranı, subakut ve kronik olguların toplam pozitiflik oranlarından daha yüksek bulunmuş ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.05$ , OR=6.77). Aynı durum kemik iliği kültür pozitiflik oranları için de geçerli olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0.05$  OR=4.12). Kronik olguların ise hiçbirinde kan kültürü pozitifliği belirlenmemiş, sadece bir olguda kemik iliği kültüründe *Brucella spp.* üremiştir.

Tablo I: Hastaların Evrelerine Göre Kan ve Kemik İliği Kültür Pozitiflik Oranları

Evre	Pozitif Kan Kültürü (%)	Pozitif Kemik İliği Kültürü (%)
Akut (n: 61)	40 (65.5)	28* (45.9)
Subakut (n: 29)	9 (31)	6 (20.7)
Kronik (n: 12)	0	1 (8.3)
<b>Toplam (n: 102)</b>	<b>49 (48)</b>	<b>35 (34.3)</b>

\* Bu olguların 23'ünde kan kültürü pozitif, beşinde negatiftir.

STA testinde  $\geq 1/160$  titreler anlamlı kabul edilmiş ve hastalık evrelerine göre değerlendirildiğinde, akut olgularda kronik olgulara göre aglütinasyon titresinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo II).

Tablo II: Evrelere Göre STA Titreleleri

STA Titresi	Evre		
	Akut (%)	Subakut (%)	Kronik (%)
1/160	2 (3)	–	6 (50)
1/320	5 (8)	5 (17)	3 (25)
1/640	11 (18)	8 (28)	–
1/1280	20 (33)	10 (34)	2 (17)
1/2560	23 (38)	6 (21)	1 (8)
<b>Toplam</b>	<b>61 (100)</b>	<b>29 (100)</b>	<b>12 (100)</b>

STA titrelerine göre iki gruba ayrılan hastaların kan ve kemik iliği kültür pozitifliklerinin karşılaştırılması Tablo III'de görülmektedir.

Tablo III: STA Titrelerine Göre Kan ve Kemik İliği Kültür Pozitiflikleri\*

STA Titre Aralığı	Pozitif Kan Kültürü (%)	Pozitif Kemik İliği Kültürü (%)
1/160-1/640 (n: 40)	11 (27.5)	9 (22.5)
1/1280-1/2560 (n: 62)	38 (61.2)	26 (41.6)

\* İkinci grupta saptanan yüksek oranlar istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0.05$ ).

Önceden bruselloza yönelik tedavi alan 27 hastanın 9'unda (%33.3) kemik iliği, 7'sinde (%25.9) kan ve üçünde (%11.1) hem kan hem kemik iliği kültürlerinde olmak üzere toplam 19'unda (%70) üreme saptanmıştır.

Kemik iliği kültüründe üreme süresi ortalama 4.2 gün bulunurken, kan kültüründe bu süre ortalama 5.8 gündür.

## TARTIŞMA

Bruselloz, dünyanın birçok bölgesinde, özellikle de Akdeniz ülkeleri, Arabistan yarımadası, Hindistan, Orta ve Güney Amerika ülkelerde endemik olan zoonotik bir enfeksiyondur<sup>1</sup>. Brusellozda tanı genellikle öykü, klinik ve serolojik bulgulara dayanılarak konmakla birlikte, altın standart etkenin kültürde üretilmesidir. Ancak her zaman etkeni üretmek mümkün değildir. Kan kültüründe etkenin üretilmediği durumlarda diğer doku örneklerinin ve özellikle de kemik iliği kültürünün yapılması önerilir<sup>1,2</sup>. Yapılan çalışmalar, kan kültür pozitiflik oranının %17-86, kemik iliği kültürlerinde pozitiflik oranının ise %25-92 arasında değiştiğini ortaya koymuştur<sup>1-8</sup>. Bu oranlar, kullanılan metoda ve inkübasyon süresine bağlı olarak değişebileceği gibi, akut olgularda ve önceden tedavi almamış hastalarda daha yüksek olmaktadır<sup>3,7</sup>. Gotuzzo ve arkadaşlarının<sup>3</sup> çalışmasında, kan kültüründen *Brucella* spp. izolasyon oranı akut olgularda %83, subakut olgularda %40 ve kronik olgularda %25 olarak belirlenmiş, kemik iliği kültürü için ise bu oranlar sırasıyla

% 97, %90 ve %50 olarak bildirilmiştir. Ülkemizdeki çalışmalara bakıldığında, kan kültür pozitiflik oranının %17-48 arasında değiştiği görülmektedir<sup>4,9</sup>. Aygen ve arkadaşları<sup>4</sup> 183 olguda yaptıkları çalışmada, izolasyon oranının kan kültüründe %46, kemik iliği kültüründe ise %24 olduğunu ifade etmişlerdir. Akdeniz ve arkadaşlarının<sup>9</sup> 233 olguluk serilerinde, kan ve kemik iliği kültür pozitiflik oranları sırasıyla %48 ve %61 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızın sonuçları da bu bulgularla paralel olup, kan ve kemik iliği kültür pozitiflik oranları sırasıyla %48 ve %34 olarak saptanmıştır.

Kan ve kemik iliği kültürlerinde üreme oranları arasındaki farkın; kullanılan kan kültür yöntemine, kültürün alınma zamanına ve hastaların içinde bulunduğu klinik döneme bağlı olabileceği belirtilmektedir<sup>6,10,11</sup>. Bazı araştırmacılar ise bu farkın, kemik iliğinde bakteri miktarının daha yüksek olmasına rağmen, alınan örnek hacminin kan örneğine göre çok daha az olmasından ya da kemik iliği kültürlerinden daha fazla sayıda kan kültürü alınmasından kaynaklandığını vurgulamaktadır<sup>3,8,12</sup>. Çalışmamızda, kan kültür pozitiflik oranı akut ve subakut brusellozlu hastalarda kemik iliği pozitiflik oranlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı oranda yüksek bulunmuş, buna karşın kronik olgularda kemik iliği kültürünün daha başarılı olduğu görülmüştür. Kan kültür pozitiflik oranımızın daha yüksek olması, hastaların çoğunun akut ve subakut dönemde olması ve alınan kan kültürü sayısının daha fazla olması ile açıklanabilir.

Önceden antibiyotik almanın, tüm enfeksiyon hastalıklarında olduğu gibi brusellozda da kültür pozitiflik oranını olumsuz yönde etkilediği bildirilmektedir<sup>3,13,14</sup>. Bizim çalışmamızda da önceden tedavi alan hastaların %44'ünde (12/27) kemik iliği, %37'sinde (10/27) kan kültürü pozitif bulunmuştur. Gotuzzo ve arkadaşları<sup>3</sup>, önceden tedavi alan on hastanın beşinde kan kültüründe, dokuzunda ise kemik iliği kültüründe etkeni üretmiş ve önceden tedavi almış olmanın kan kültürlerini, kemik iliği kültüründen daha çok etkilediğini ileri sürmüştür. Özkurt ve arkadaşlarının<sup>15</sup> çalışmasında da, önceden tedavi alan hastaların %28'inde kanda ve %48'inde kemik iliğinden etken üretilmiştir. Bizim çalışmamızda da önceden tedavi alan hastalarda kültür pozitiflik oranı düşük olarak saptanmıştır. Bu veriler, önceden antibiyotik kullanan hastalarda kemik iliği kültürü yapılmasının daha yararlı olabileceğini düşündürmektedir. Buna ek olarak önceden bruselloza yönelik tedavi aldığı öğrenilen hastalarımızın toplam olarak %70'inde (19/27) kan ve/veya kemik iliği kültür pozitifliğinin olması ilgi çekicidir. Bu durum daha önceden uygulanan tedavilerin bazı nedenlerden dolayı (yetersiz süre, uygun olmayan kombinasyonlar, hasta uyumsuzluğu, vb) kültür pozitifliği üzerindeki etkisinin az olduğunu düşündürmüştür.

Çalışmamızda, yüksek STA titresine sahip hastalarda kültür pozitiflik oranı, düşük titrelerle sahip hastalara göre, beklendiği üzere daha yüksek bulunmuştur. Zira yüksek aglütinin titreleri saptanan hastaların büyük bir kısmı, akut dönemdeki hastalardan oluşmaktadır.

Geç üreme özelliği gösteren *Brucella* türlerinin izolasyon süreleri, kan kültürleri için ortalama 6 gün, kemik iliği kültürleri için ortalama 4 gün olarak bildirilmektedir<sup>3,10,16</sup>. Bizim çalışmamızda da, kemik iliği kültüründe saptanan

ortalama üreme süresinin (4.2 gün), kan kültürüne (5.8 gün) göre daha kısa olduğu görülmüş ve bu durumun bakterinin kemik iliği, lenf bezi ve dalak gibi organlarda daha yoğun bulunmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Bruselloz tanısında kan ve kemik iliği kültürlerinin tanı değerinin araştırıldığı bu çalışmanın sonunda, akut olgularda kan kültürü alınmasının yeterli olduğu, buna karşın travmatik bir işlem olan kemik iliği kültürünün kronik bruselloz şüpheli olgular ile eksik ya da uygun olmayan bruselloz tedavisi alanlarda tanı sıkıntısı olduğunda uygulanmasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. Young EJ. *Brucella* species, pp: 2386-93. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases. 2000, 5<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone Inc. New York.
2. Gotuzzo E, Carrillo C. *Brucella*, pp: 1837-45. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklov NR (eds), Infectious Diseases. 1998, 2<sup>nd</sup> ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
3. Gotuzzo E, Carrillo C, Guerra J, Llosa L. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis- The value of bone marrow culture. J Infect Dis 1986; 153: 122-5.
4. Aygen B, Sümerkan B, Kardaş Y, Doğanay M, İnan M. Bruselloz: 183 olgunun değerlendirilmesi. Klimik Derg 1995; 8: 13-6.
5. Mousa AR, Muhtaseb SA, Almudallal DS, Khodeir SM, Marafie AA. Osteoarticular complications of brucellosis: a study of 169 cases. Rev Infect Dis 1987; 9: 531-43.
6. Yagupsky P. Detection of *Brucella* in blood cultures. J Clin Microbiol 1999; 37: 3437-42.
7. Colmenero JD, Reguera JM, Cabrera FP, Cisneros JM, Orjuela DL, Fernandez-Crehuet J. Serology, clinical manifestations and treatment of brucellosis in different age groups. Infection 1990; 18: 152-6.
8. Shehabi A, Shakir K, El-Khateeb M, Qubain H, Farrajeh N, Abu Shamat AR. Diagnosis and treatment of 106 cases of human brucellosis. J Infect 1990; 20: 5-10.
9. Akdeniz H, İrmak H, Demiroz AP. Evaluation of brucellosis cases in Van region of Eastern Anatolia: a- 3 year experience. Nogoya Med J 1998; 42: 101-10.
10. Ruiz J, Lorente I, Perez J, Simarro E, Campos ML. Diagnosis of brucellosis by using blood cultures. J Clin Microbiol 1997, 35: 2417-8.
11. Yagupsky P, Peled N, Press J, Abu-Rashid M, Abramson O. Rapid Detection of *Brucella melitensis* from blood cultures by a commercial system. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997; 16: 605-7.
12. Al-Eissa YA, Kambal AM, Al Nasser MN, Al-Habib SA, Al-Fawaz IM, Al-Zamil FA. Childhood brucellosis: a study of 102 cases. Pediatr Infect Dis J 1990; 9: 74-9.
13. Özer S, Oltan N, Gençer S. Bruselloz: 33 olgunun değerlendirilmesi. Klimik Derg 1998; 11: 82-4.
14. Çağatay AA, Küçükoğlu S, Berk H ve ark. Otuzaltı bruselloz olgusunun değerlendirilmesi. Klimik Derg 2002; 15: 19-21.
15. Özkurt Z, Kaya A, Taşyaran MA, Yılmaz Ş. Bruselloz tanısında standart tüp aglütinasyon testi, kan ve kemik iliği kültürlerinin tanı değerlerinin karşılaştırılması. İnfeksiyon Derg 2000, 14: 463-8.
16. Ozturk R, Mert A, Kocak F, et al. The diagnosis of brucellosis by use of BACTEC 9240 blood culture system. Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 44: 133-5.