

Kan Kültürü Pozitifliği: Etken ya da Kontaminasyon mu?

Blood Culture Positivity: Is It Pathogen or Contaminant?

Ahmet BALIKÇI, Zeliha BELAS, Aynur EREN TOPKAYA

Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
Maltepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 26.03.2012 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 11.09.2012

ÖZET

Kan kültürü, kan dolaşımı enfeksiyonlarının tanısında altın standarttır. Mikroorganizmaların hızlı üretilmesi ve tanımlanması antibiyotik tedavisine zamanında başlanmasını sağladığı ve mortaliteyi azalttığı için hastalar açısından hayati öneme sahiptir. Etken mikroorganizmanın üremesini hızlandırmak ve bunu izlemeyi kolaylaştırmak için geliştirilmiş olan otomatize sistemler ile kontaminasyon oranının da arttığı görülmektedir. Dolayısıyla, özellikle birden fazla örnek alınamayan durumlarda, kan kültürü şişelerinde saptanan pozitifliğin yorumlanması güçleşmektedir. Bu çalışmada, otomatize kan kültürü sistemlerinde saptanan üreme zamanına göre mikroorganizmaların etken ya da kontaminant olma durumları araştırılmıştır. Çalışmamızda, bir yıllık dönemde BACTEC 9120 (Becton Dickinson, ABD) sistemine yüklenen 1201 kan kültürü şişesinden alınan sonuçlar irdelenmiş; pozitif sonuç alınan şişelerin üreme zamanları kaydedilmiştir. Üreyen bakterilerin etken ya da kontaminasyon olup olmadığının değerlendirilmesinde, hastanın kliniği, üreme saptanan kan kültürü sayısı ve inflamasyon belirteçlerinin (beyaz küre sayısı, prokalsitonin ve CRP düzeyi) sonuçları dikkate alınmıştır. Yapılan değerlendirmede, kan kültürü şişelerinin %24 (290/1201)'ünde üreme olduğu saptanmış; üreyen mikroorganizmaların %73 (212/290)'ü etken, %27 (78/290)'si kontaminant olarak tanımlanmıştır. Etken olarak kabul edilen bakteriler için ortalama üreme süresi 17.87 saat, kontaminant kabul edilenler için ise 40.56 saat olarak hesaplanmış; etken ve kontaminant mikroorganizmaların üreme süresi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.0001$). Tüm üremeler göz önüne alındığında, bakterilerin %66'sının ilk 24 saat içinde ürettiği görülmüştür. Etken olarak kabul edilen bakterilerin %29.6'sı ilk 12 saat içinde ürerken, bu sürede üreyen kontaminant bakteri olmamıştır. Stafilkoklarda metisiline direnç durumu ile üreme süresi arasındaki ilişki incelendiğinde, hem etken hem de kontaminant olarak tanımlanan metisiline dirençli stafilkok suşlarının, metisiline duyarlı olan suşlara göre daha geç ürettiği saptanmıştır (sırasıyla ortalama 26 saat ve 11 saat; $p < 0.01$). Çalışmamızda elde edilen veriler, özellikle birden fazla örneğin alınamadığı durumlarda, kan kültürü şişesindeki üreme süresinin, izole edilen mikroorganizmanın etken ya da kontaminant olup

İletişim (Correspondence): Yrd. Doç. Dr. Ahmet Balıkçı, Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Maltepe, İstanbul, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 536 227 9283, **E-posta (E-mail):** balikciyahmet@yahoo.com

olmadığının öngörülmesinde, kritik bir role sahip olduğunu vurgulamaktadır. Sonuç olarak, özellikle ilk 12 saat içinde saptanan üremelerin etken, ilk 24 saat içinde olan üremelerin yüksek olasılıkla etken, 48 saat ve sonrasındaki üremelerin ise kontaminant lehine yorumlanması gerektiği düşünülmüştür. Ancak etken olsun ya da olmasın, metisiline dirençli stafilokokların üreme süresinin 24 saatten daha uzun olduğu unutulmamalıdır.

Anahtar sözcükler: Kan kültürü; üreme zamanı; stafilokoklar; metisilin direnci.

ABSTRACT

Blood culture is the gold standard for diagnosis of bloodstream infections. Many studies have shown that rapid isolation and identification of the microorganisms in blood culture and initiation of early antimicrobial therapy are critically important to reduce the mortality rate. It was found that the rate of contamination in blood cultures is increasing with automated systems developed to facilitate the growth of microorganism and tracking positivity. It is more difficult to interpret a positive blood culture result especially in the case of having only one sample bottle. In this study the effect of growth time observed in the automated blood culture systems was evaluated in terms of interpretation of blood culture results as being pathogens or contaminants. A total of 1201 blood cultures tested in BACTEC 9120 (Becton Dickinson, USA) system in Maltepe University Hospital Medical Microbiology Laboratory, Istanbul, Turkey during one-year period were included in the study and growth times were recorded for positive bottles. The decision about the growth as being a pathogen or contamination was made by considering the clinical condition of the patient, the number of positive blood cultures and the results of inflammation markers (white blood cell counts, procalsitonin and CRP levels). Of the blood cultures 290 (24%) yielded positive results and 73% (212/290) of them were evaluated as pathogens, while 27% (78/290) were identified as contaminants. The mean detection time for clinically significant isolates was 17.87 hours and for contaminants was 40.56 hours. The difference between the growth time of pathogens and contaminants was found statistically significant ($p < 0.0001$). With regard to all positive results, it was detected that 66% of the bacteria grew within the first 24 hours. While 29.6% of the pathogens grew within 12 hours, none of the contaminants grew during that time. The evaluation of growth time among staphylococci in terms of methicillin resistance revealed that methicillin-resistant staphylococci grew later (26 hours) than the susceptible ones (11 hours) both in the pathogen group and the contaminant group ($p < 0.01$). The data of our study emphasized that, the growth time detected in blood culture systems had a critical role in estimating whether the isolated microorganism is a pathogen or a contaminant, especially in case of lack of more than one blood samples. It was concluded that, the bacterial growth detected within the first 24 hours most probably indicated the microorganism as pathogen, while blood culture positivity detected after 48 hours strongly pointed out that it was contaminant. However, it should be considered that methicillin-resistant staphylococci needed much longer time than 24 hour for growth, both as pathogens or contaminants.

Key words: Blood culture; detection times; staphylococci; methicillin resistance.

GİRİŞ

Kan dolaşımı enfeksiyonları hastanede yatan hastalarda en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Kan dolaşımı enfeksiyonlarının tespiti için alınan kan kültürlerinin sonuçlarının doğru yorumlanması, klinik mikrobiyoloji laboratuvarının en önemli işlevlerinden biridir. Etkenlerin en kısa sürede saptanarak antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması, tedavinin doğru yönlendirilmesi ve mortalitenin azaltılmasında büyük önem arz etmektedir. Hızlı tanı için nükleik asit problemleri ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

gibi çeşitli moleküler teknikler geliştirilmiş olmasına rağmen, hala en duyarlı ve güvenilir yöntem kan kültürüdür^{1,2}. Kan kültürü için BACTEC ve BACT/ALERT gibi tam otomatize sistemler ülkemizde en çok tercih edilen ve güvenilir bir şekilde kullanılan yöntemlerdir. Bu sistemlerde üremenin saptanma süresi kısalmış olmakla birlikte, yöntemlerin hassasiyeti nedeniyle cilt antisepsisinin ve şişe kapağı dezenfeksiyonunun uygun yapılmadığı durumlarda ve kan kültür şişelerinin zengin besiyeri içeriği nedeniyle, kontaminasyon oranlarında artış görülmektedir³.

Kan kültürü pozitifliğini, özellikle kontaminant olabilecek mikroorganizmalar ürediğinde ve çeşitli nedenlerle birden fazla örneğin alınamadığı durumlarda doğru yorumlamak, klinik mikrobiyoloji laboratuvarı için önemli bir sorundur. Mikroorganizmanın cinsi, örnekteki mikroorganizma yükü, mikroorganizmaların üreme sürelerinin farklı olması ve örneğin oda ısısında bekleme süresi gibi değişkenlerin de sonuç verme süresini etkilediği düşünülürse, bu örneklerin raporlanmasının kolay olmadığı açıktır. Kan kültürü sonuçlarının hızlı ve doğru yorumlanması; etkenlerin mümkün olan en kısa sürede saptanmasını, antibiyotik duyarlılık testlerinin doğru raporlanarak, tedavinin yönlendirilmesini ve böylece mortalitenin azaltılmasını sağlar¹. Bu çalışmada, kan kültürü pozitiflik süresi ile mikroorganizmaların etken ve kontaminant olarak kabul edilmesi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada, otomatize kan kültürü sistemlerinden BACTEC-9120 (Becton Dickinson, ABD) kullanıldı. Kan örnekleri hastaların ateşi yükselmeden hemen önce veya ateşli dönemde farklı venlerden, erişkin hastalardan 10 ml, çocuk hastalardan 4 ml olacak şekilde alındı. Şişeler sisteme yüklendikten sonra pozitif alarm veren şişelerden preparat hazırlanarak Gram ile boyandı ve görülen bakterinin morfolojisine göre, %5 koyun kanlı agar veya McConkey agara pasajları yapılarak 35°C'de 24 saat inkübe edildi. Üreyen bakterilerin tanımlanması API (bioMérieux, Fransa) testi ile biyokimyasal olarak gerçekleştirildi⁴. Stafilokokların metisiline direnç durumları, CLSI önerileri doğrultusunda sefoksitin disk difüzyon yöntemiyle tanımlandı⁵.

Üreyen suşların bakteriyemi veya fungemi etkeni olup olmadıklarına, üreme olan şişe sayısı ve hastanın klinik bulguları ve inflamasyon göstergeleri dikkate alınarak karar verildi. İki veya daha fazla şişede üreme olduğunda ve hastada klinik bulgular ve inflamasyon göstergeleri pozitif ise (lökositoz, CRP ve prokalsitonin yüksekliği) etken kabul edildi. Üreme saptanan şişelerin üreme süreleri saat cinsinden not edildi ve aynı hastaya ait birden fazla şişede üreme saptandığında şişelerden pozitiflik saptanan ilk şişenin üreme zamanı değerlendirmeye alındı.

Tüm veriler SPSS 17 programında "Unpaired t test" kullanılarak analiz edildi; $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Bir yıllık sürede laboratuvarımıza gelen 1201 kan kültürü şişesinin 290 (%24)'ünde üreme saptanmış, bunlardan 212 (%73) suş etken, 78 (%27) suş kontaminant kabul

Tablo I. Etken ve Kontaminant Bakterilerin Dağılımı ve Üreme Zamanları

Bakteri	Etken (n)	Kontaminant (n)	Üreme zamanı (saat) (n) (%)				Toplam n (%)
			< 12	12-24	24-48	> 48	
<i>E.coli</i>	67	3	43 (61.4)	18 (25.6)	7 (10)	2 (3)	70 (24.1)
MSKNS	34	30	8 (12.5)	24 (37.5)	27 (42)	5 (8)	64 (22.2)
MRKNS	34	20	0	21 (38.8)	23 (42.7)	10 (18.5)	54 (18.6)
MSSA	12	0	7 (58)	5 (42)	0	0	12 (4.1)
MRSA	3	2	0	3 (60)	2 (40)	0	5 (1.7)
<i>Klebsiella</i> spp.	8	2	6 (60)	3 (30)	1 (10)	0	10 (3.4)
<i>Enterobacter</i>	14	0	9 (64)	5 (36)	0	0	14 (4.8)
Enterokoklar	24	3	8 (30)	13 (48)	6 (22)	0	27 (9.3)
Nonfermentatifler	4	3	1 (14)	6 (86)	0	0	7 (2.4)
Maya	3	2	0	0	4 (80)	1 (20)	5 (1.7)
Diğer	9	13	4 (18)	7 (27)	4 (18)	7 (27)	22 (7.5)
Toplam	212	78	86	105	74	25	290 (100)

MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*; MRKNS: Metisiline dirençli koagülaz-negatif stafilocok; MSSA: Metisiline duyarlı *S.aureus*; MSKNS: Metisiline duyarlı koagülaz-negatif stafilocok; Diğer: *Streptococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Serratia* spp.

edilmiştir (Tablo I). Çalışmamızda en sık izole edilen etkenler koagülaz-negatif stafilocoklar (KNS) olmuş, bunu *Escherichia coli* izlemiştir.

Etken olduğu düşünülen bakterilerin tümü için ortalama üreme süresi 17.87 saat, kontaminant kabul edilenler için 40.56 saat olarak hesaplanmıştır (Tablo I). Etken ve kontaminant suşların üreme süreleri karşılaştırıldığında, aradaki farkın istatistiksel olarak önemli düzeyde anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0.0001$). Etkenlerin %29.6'sı ilk 12 saatte, %66.2'si ilk 24 saatte ve %91.3'ü 48 saat içinde üremiştir.

Çalışmamızda, etken ya da kontaminant olarak tanımlanmış tüm metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolatlarının, metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA)'lara göre daha uzun sürede ürediği gözlenmiştir. MRSA'lar ortalama 26 saatte üreme gösterirken, MSSA'lar ortalama 11 saatte üremiş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.01$). MSSA suşlarından %58'i (44/76) ilk 24 saat, %20 (15/76)'si ilk 12 saat içinde ürerken; MRSA suşlarından %41'i (24/59) ilk 24 saat içinde üremiş, ancak hiçbir suşta ilk 12 saatte üreme olmamıştır.

TARTIŞMA

Kan kültürlerinde patojen etkenin mümkün olan en kısa süre içinde saptanması, tedaviye zamanında başlanması sağlayarak mortaliteyi önemli oranda azaltmaktadır¹. Ancak deri antisepsisi uygun olarak yapılmadığında ve özellikle tek kan kültürü şişesine örnek alındığında kontaminant bakteriler üremekte ve bu üremeler için etken-kontaminasyon ayrımı zorlaşmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda, etken olarak belirlenen organizmaların ortalama üreme süreleri, erişkin yaş grubunda gram-pozitif bakteriler için 18-

19 saat, gram-negatif bakteriler için 15-19 saat, mayalar için 23-41 saat olarak saptanmış; pediatrik yaş grubu için bu değer ortalama 23 saat olarak bulunmuş; etken mikroorganizmaların ilk 24 saat içinde üreme oranları ise %68-90 olarak bildirilmiştir⁶⁻⁸. İki farklı çalışmada, sıklıkla kontaminant olduğu düşünülen KNS'nin ortalama üreme süreleri 24-29 saat olarak saptanmış ve etken olduğu düşünülen diğer gram-pozitif bakterilere kıyasla daha geç üredikleri belirlenmiştir^{6,8}. Bizim çalışmamızda, sadece etken olan bakteriler değil kontaminant bakteriler de birlikte incelenmiş; etken olduğu düşünülen bakterilerin kontaminant bakterilere göre üreme sürelerinin ortalama 23 saat daha kısa olduğu gösterilmiştir. İlk 24 saat içinde üreme oranları ise %66 olarak izlenmiştir. Kontaminant olarak kabul edilen grupta üreme süresinin (40 saat), etken olarak kabul edilen gruba (17 saat) göre daha uzun olduğu belirlenmiş; üreme süreleri açısından iki grup arasında saptanan fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Durmaz ve arkadaşlarının⁶ 11.156 kan kültürünü değerlendirdiği çalışmalarında, kan kültürü şişelerinin %68'inde saptanan üremenin etken olan mikroorganizmalara ait olduğu belirlenmiş ve ortalama üreme süresi 23.56 saat olarak bildirilmiştir. Janjindamai ve arkadaşlarının⁷ pediatrik hasta grubunda yaptığı çalışmada ise, kan kültürü şişelerinde ilk 24 saat içinde (ortalama 13 saat) %71 oranında üreme olduğu saptanmıştır. Gopi ve arkadaşları⁸ da, etken olan mikroorganizmaların ilk 24 saatte %90'a varan oranlarda ürediğini göstermişlerdir.

Çalışmamızda, stafilokokların metisiline direnç durumları ile üreme süreleri arasındaki ilişki incelendiğinde; gerek etken gerekse kontaminant olarak tanımlanan MRSA suşlarının (ortalama 26 saat) MSSA suşlarına (ortalama 11 saat) kıyasla daha geç üreme eğiliminde olduğu belirlenmiştir. MSSA suşlarının %20'sinin ilk 12 saat içinde ürediği izlenirken, MRSA suşlarının hiçbirisinde ilk 12 saatte üreme olmamıştır. Stafilokok üremesi saptanan kan kültürü sonuçlarının irdelendiği diğer çalışmalarda, MSSA'ların sırasıyla ortalama 15-16 saatte, MRSA'ların ise ortalama 17-18.8 saatte üredikleri bildirilmektedir^{9,10}. Lai ve arkadaşları¹¹ da benzer olarak, MSSA suşlarının 14.4 saat gibi kısa bir sürede ürediğini, buna karşın MRSA suşlarının üreme süresinin ortalama 28.8 saat gibi oldukça uzun süre aldığını rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak bu çalışmada, özellikle birden fazla örneğin alınamadığı durumlarda, kan kültürleri değerlendirilirken etken-kontaminant ayrımının yapılmasında üreme sürelerinin kritik bir rolü olduğu gösterilmiştir. Kan kültüründe üreme olduğunda, bu üreme tek kan kültürü şişesinde dahi olsa ilk 24 saat içinde saptanıyorsa ve klinikle uyumlu ise etken olarak kabul edilip, hızla tedaviye başlanmalıdır. Ancak MRSA'larda üreme süresinin 24 saatten daha uzun olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. 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.
2. Chiarini A, Palmeri A, Amato T, Immordino R, Distefano S, Giammanco A. Detection of bacterial and yeast species with the Bactec 9120 automated system with routine use of aerobic, anaerobic, and fungal media. *J Clin Microbiol* 2008; 46(12): 4029-33.

3. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. Clin Microbiol Rev 2006; 19(4): 788-802.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Principles and procedures for blood cultures. Approved Guideline M47-A, 2007. CLSI, Wayne, PA.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 20th Informational Supplement. Document M100-S20. 2010. CLSI, Wayne, PA.
6. Durmaz G, Us T, Aydinli A, Kiremitci A, Kiraz N, Akgun Y. Optimum detection times for bacteria and yeast species with the BACTEC 9120 aerobic blood culture system: evaluation for a 5-year period in a Turkish university hospital. J Clin Microbiol 2003; 41(2): 819-21.
7. Janjindamai W, Phetpisal S. Time to positivity of blood culture in newborn infants. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2006; 37(1): 171-6.
8. Gopi A, Ravikumar KL, Ambarish MG, et al. Time to positivity of microorganisms with BACTEC 9050: an 18-month study among children of 28 days to 60 months in an South Indian tertiary hospital. Intl J Microbiol Res 2011; 2(1): 12-7.
9. Kim J, Gregson DB, Ross T, Laupland KB. Time to blood culture positivity in *Staphylococcus aureus* bacteraemia: association with 30-day mortality. J Infect 2010; 61(3): 197-204.
10. Khatib R, Riederer K, Saeed S, et al. Time to positivity in *Staphylococcus aureus* bacteremia: possible correlation with the source and outcome of infection. Clin Infect Dis 2005; 41(5): 594-8.
11. Lai CC, Wang CY, Liu WL, Hou CC, Huang YT, Hsueh PR. Time to blood culture positivity as a predictor of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia. J Infect 2011; 62(2): 190-1.