

## Mikroorganizma Konsantrasyonu-Pozitif Sonuç İlişkisi ile Bir Kan Kültür Sisteminin Validasyonu

### Validation of a Blood Culture System Via Correlation Between Microorganism Concentration and Positive Result

A. Esra KARAKOÇ<sup>1</sup>, Vasfi TANJU<sup>1</sup>, Mihriban YÜCEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SB Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

#### ÖZET

**Giriş:** Dolaşım sistemi infeksiyon etkenlerinin en kısa sürede ve doğru olarak tanımlanabilmesi için, laboratuvarında kullanılan kan kültür sisteminin sonuç validasyonu sağlanmalıdır. Bu çalışmada, farklı mikroorganizma gruplarının deneysel olarak inoküle edildiği kan kültür vasatları BACTEC 9240 kan kültür cihazında takip edilerek mikroorganizma cinsi, konsantrasyonu ve pozitif sonuç verme süresi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

**Materyal ve Metod:** Çalışma kapsamına Enterobacteriaceae ailesi üyeleri, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.* ve beta-hemolitik streptokoklar, *Candida*'lar ve nonfermentatif bakterilerden oluşan toplam 239 suş alındı. Bu suşların altı farklı dilüsyonu hazırlandı. Günü geçmiş bağışçı kanı (10 mL) ile birlikte kan kültürü vasatlarına inoküle edilen mikroorganizmaların kan kültür cihazı tarafından pozitif olarak belirlenme süreleri takip edildi.

**Bulgular:** Enterobacteriaceae ailesinin çalışmada değerlendirilen cinslerinde ve gram-pozitif koklarda her bakteri grubu için üremenin saptandığı süre ile bakteri konsantrasyonu arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Ayrıca, tüm bakteri konsantrasyonlarında üremenin saptanma süresi ile bakteri cinsi arasındaki ilişki önemli bulundu ( $p < 0.05$ ). Çalışma kapsamına alınan *Candida* suşlarının farklı dilüsyonlarının inoküle edildiği 180 BACTEC kan kültür vasatının 26 (%14.4)'sı, nonfermentatif bakterilerin inoküle edildiği 180 BACTEC kan kültür vasatının da 43 (%23.9)'ü BACTEC 9240 kan kültür cihazı tarafından pozitif olarak belirlenemedi ve bunların subkültür ile yalnızca negatif sonuçlar olduğu doğrulandı. *Candida* suşları için üremenin saptandığı süre bazı konsantrasyonlarda geniş sapmalar gösterdiyse de istatistiksel değerlendirmede konsantrasyon ile pozitif sonuç verme süresi arasındaki ilişki önemli bulundu ( $p < 0.05$ ). Nonfermentatif bakteriler için üremenin saptandığı ortalama sürenin bakteri konsantrasyonu ile uyumlu olmadığı saptandı ve nonfermentatif bakteri grubunda bakteri konsantrasyonu ile üremenin saptanma süresi arasındaki ilişki önemli bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

**Sonuç:** Bu çalışmada BACTEC 9240 kan kültür sisteminin Enterobacteriaceae ailesi ve gram-pozitif koklar için sonuç validasyonu sağlanmış; fakat *Candida* ve nonfermentatif bakteriler için sonuç validasyonu sağlanamamıştır. Sistemin *Candida* ve nonfermentatif bakterilerin bazı dilüsyonlarını saptamada sınırlı olduğu belirlendi. Kan kültür sisteminin tespit edilen sınırlamalarının hatalı sonuçlara yol açmaması için beş günlük inkübasyon süresi sonunda negatif saptanan kan kültür vasatlarından boyama ve subkültür yapılması gerektiği, mantar şüphesinde özel kan kültür vasatlarının kullanılmasının ve inkübasyonun 21 güne uzatılmasının uygun olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kalite kontrol, Gram-negatif bakteri, Gram-pozitif bakteri, *Candida*, Kan, Kültür

## SUMMARY

**Validation of a Blood Culture System Via Correlation Between  
Microorganism Concentration and Positive Result**A. Esra KARAKOÇ<sup>1</sup>, Vasfi TANJU<sup>1</sup>, Mihriban YÜCEL<sup>1</sup><sup>1</sup> Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Ankara Training and Research Hospital, Ankara, Turkey

**Introduction:** Quick and accurate determination of the pathogens that invade the circulatory system requires the validation of the blood culture system used in the laboratory. In this study, the growth of microorganisms in different concentrations that were experimentally inoculated into BACTEC blood culture media was monitored by BACTEC 9240 blood culture system, and relations between microorganism species, concentration and time to positivity signal were investigated.

**Materials and Methods:** A total of 239 strains isolated from clinical specimens, including Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus and Staphylococcus spp., Enterococcus spp., beta-hemolytic streptococci, Candida spp., and nonfermentative bacilli were included in this study. A decreasing order of six dilutions were prepared from the strains, and blood culture bottles were experimentally inoculated by these dilutions within 10 mL of expired, volunteer donor whole blood, and the times to positivity were monitored.

**Results:** The relation between bacterial concentration and time to positivity signal was statistically significant for Enterobacteriaceae and gram-positive cocci ( $p < 0.05$ ). The relation between bacterial genus/species for Enterobacteriaceae and gram-positive cocci and time to positivity was statistically significant for all bacterial concentrations ( $p < 0.05$ ). A total of 26 of 180 (14.4%) blood culture vials experimentally inoculated with Candida species and 43 of 180 (23.9%) vials inoculated with nonfermentative bacilli were found to be negative by BACTEC 9240 blood culture system. These false-negative results of BACTEC 9240 were confirmed by subculturing. The average time to positivity did not correlate with the concentration of Candida and nonfermentative bacilli in some of the dilutions. The relation between the concentration and time to positivity was statistically significant ( $p < 0.05$ ) for Candida species but not statistically significant for nonfermentative bacilli ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** BACTEC 9240 blood culture system was validated for Enterobacteriaceae and gram-positive cocci. Validation of the system for Candida species and nonfermentative bacilli was not accomplished. The system has been shown to have a limitation regarding its inability to detect growth of some dilutions of Candida and nonfermentative bacilli. It was thought that the microscopic examination of the blood culture bottles that tested negative by the system or subculturing may be useful in the routine laboratory procedure and may avoid this limitation of the automated blood culture system. Furthermore, if there is a suspicion of fungal infection, using selective fungal medium and following cultures up to 21 days would be appropriate.

**Key Words:** Quality control, Gram-negative bacteria, Gram-positive bacteria, Candida, Blood, Culture

**GİRİŞ**

Dolaşım sisteminin mikroorganizmalar tarafından invazyonu, enfeksiyon hastalıklarında görülen en ciddi durumlardandır. Dolaşım sistemi enfeksiyonları, %20-50 oranında ölümlerle sonuçlanmaktadır. Bu nedenle hasta kan örneklerinde canlı mikroorganizmaların saptanması tanıl ve prognostik açıdan büyük önem taşır. Kan kültürlerindeki bakteriyel üreme, manüelden, tam otomatize sistemlere kadar değişen tekniklerle belirlenebilir. Günümüzde manuel ve yarı otomatize sistemlerin kullanımı, yüksek kontaminasyon oranları ve hatalı pozitif sonuçların gözlenmesi nedeniyle oldukça azalmış durumdadır<sup>[1]</sup>.

Otomatize ve bilgisayarlı devamlı okumalı kan kültür sistemlerinin kullanıma girmesi, son yıllarda mikrobiyoloji alanındaki en önemli gelişmelerdendir. Oto-

matize kan kültür sistemlerinin sağladığı en önemli avantajlar, mikroorganizmaların daha hızlı ve yüksek olasılıkla izole edilebilmesi, yalnızca pozitif sonuç oranının düşmesi ve laboratuvar iş yükünün azalmasıdır<sup>[1-3]</sup>. En yaygın kullanılan otomatize kan kültür sistemleri BacT/Alert (BioMerieux, France), BACTEC (Becton Dickinson, Sparks, Md.) ve ESP (Difco Laboratories, Detroit MI) kan kültür sistemleridir<sup>[1]</sup>.

Kan kültür sistemlerinin validasyon ve verifikasyonu için paralel çalışma ve inokülasyon yöntemlerinden birinin kullanılması önerilmektedir<sup>[4]</sup>. Bu çalışmada inokülasyon yöntemi ile dolaşım sistemi enfeksiyonlarına en sık yol açan mikroorganizmalar için; cins, konsantrasyon ve BACTEC 9240 kan kültür sistemi tarafından üremenin tespit edilme süresi arasındaki ilişki belirlenerek laboratuvarımızda kullanıl-

makta olan kan kültür sisteminin sonuç validasyonunun sağlanması amaçlanmıştır.

### MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada, farklı klinik örneklerden izole edilen mikroorganizmalar ile hazırlanan süspansiyonların deneysel olarak günü geçmiş 10 mL bağışçı kanı ile birlikte, laboratuvarımızda bulunan kan kültür sistemine ait vasatlara azalan konsantrasyonlarda inokülasyonu ve otomatize kan kültür sistemine ait bilgisayarda izlenmesi yolu ile pozitif sonuç verme süresi ve mikroorganizma konsantrasyonu arasındaki ilişki araştırıldı. Kan kültür vasatına deneysel inokülasyonu yapılan mikroorganizma ile subkültür ve boyama sonuçları, olası bir kontaminasyon yönünden karşılaştırıldı. Çalışmada otomatize kan kültür sistemi olarak BACTEC 9240 kan kültür cihazı kullanıldı ve mikroorganizma cinsi, konsantrasyonu ve pozitif sonuç verme süresi arasındaki ilişki incelendi.

Çalışma kapsamına hemokültürlerde en sık izole edilen mikroorganizmalar olmaları sebebiyle gram-pozitif koklardan stafilokok, enterokok ve streptokok; gram-negatif basillerden *Enterobacteriaceae* ailesine ait bazı mikroorganizmalar ve nonfermentatif gram-negatif bakteriler; mantarlardan *Candida*'ları içeren, laboratuvarımıza ait farklı klinik örneklerden izole ve identifiye edilmiş toplam 239 suş alındı (Tablo 1).

Çalışma, iki aşamada yürütüldü. Birinci aşamada, üremenin logaritmik fazını elde etmek amacıyla %5 koyun kanlı agarda 18 saat inkübe edilen mikroorganizmalar uygun McFarland eşeli kullanılarak triptikaz soya buyyonunda süspanse edildi. Süspansiyonlar kan kültür besiyerlerine inoküle edilmeden önce mL'de  $10^6$ - $10^7$  mikroorganizma elde etmek üzere fosfat buffer solüsyonu (PBS)'nda dilüe edildi. Hazırlanan süspansiyonlar 10 mL bağışçı kanı ile birlikte BACTEC 9240 kan kültür vasatlarına inoküle edildi. Her bir suş için mL'de  $10^5$ - $10^1$  aralığında ( $10^5$ ,  $10^3$ ,  $10^2$ , 10, 5 ve 1 bakterimaya/mL) mikroorganizma içeren altı vasat, üremenin kan kültür cihazı tarafından belirlenme süresi yönünden takip edildi (Tablo 2). İkinci aşamada ise, sonuçların doğrulanması için boyama (önce akrinin oranj, sonra Gram) ve uygun besiyerlerine subkültürler yapıldı.

Her bir suş için altı dilüsyona ait ekim yapıldığından, toplam 1434 kan kültür şişesi takip edildi. Çalışmada kullanılan mikroorganizma gruplarına ait veriler her bir mikroorganizma grubu için ayrı ayrı ve topluca incelendi. Her bir çalışma dilüsyonu için araştırmada kullanılan mikroorganizma gruplarının kan kültür sistemi tarafından pozitif saptanma süreleri arasındaki fark, Kruskal-Wallis testiyle incelendi. Farklılık önemli bulunduğu farkı yaratan mikroorganizma gruplarını belirlemek için Bonferroni düzeltmesi yapılarak Mann-Whitney U testi uygulandı.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan mikroorganizma grupları

Grup	Cins/tür	Sayı
• <i>Enterobacteriaceae</i> (n= 84)	<i>Escherichia coli</i>	22
	<i>Proteus spp.</i>	10
	<i>Klebsiella spp.</i>	16
	<i>Enterobacter spp.</i>	14
	<i>Salmonella spp.</i>	10
	<i>Serratia spp.</i>	10
	<i>Morganella spp.</i>	1
	<i>Citrobacter spp.</i>	1
• Gram-pozitif kok (n= 95)	<i>Staphylococcus aureus</i>	20
	<i>Staphylococcus spp.</i>	15
	<i>Enterococcus spp.</i>	30
	Beta-hemolitik streptokok	30
• Nonfermentatif bakteri (n= 30)	<i>Pseudomonas spp.</i>	15
	<i>Acinetobacter spp.</i>	15
• Maya (n= 30)	<i>Candida spp.</i>	30
• Toplam		239

**Tablo 2. Çalışmada kullanılan mikroorganizma konsantrasyonları**

Mikroorganizma dilüsyonu (DİL)	DİL 1	DİL 2	DİL 3	DİL 4	DİL 5	DİL 6
• 1 mL PBS'deki mikroorganizma konsantrasyonu	10 <sup>6</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	50	10
• İnoküle edilen 10 mL kandaki* mikroorganizma konsantrasyonu	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10	5	1

\* Günü geçmiş tam kan (asit sitrat dekstroz içinde).

PBS: Fosfat buffer solüsyonu.

Her bir mikroorganizma grubu için kan kültür sistemi tarafından pozitif sonuç verme süreleri açısından araştırmada kullanılan konsantrasyonlar arasındaki fark, Friedman testiyle incelendi. Farkın önemli bulunduğu durumlarda, farkı yaratan konsantrasyonları belirlemek için Bonferroni düzeltmesi yapılarak Wilcoxon testi uygulandı.

## BULGULAR

Laboratuvarımızda kullanılmakta olan kan kültür sisteminin sonuç validasyonunun sağlanması amacıyla yaptığımız bu çalışmada, kan kültürlerinden en sık izole edilen *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.* ve beta-hemolitik streptokoklardan oluşan gram-pozitif koklar ve *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinin yanı sıra *Candida spp.* ve nonfermentatif bakteri suşları değerlendirilmiştir.

*Enterobacteriaceae* ailesinin çalışmada değerlendirilen cinslerinde ayrı ayrı ve toplu olarak üremenin saptandığı ortalama sürenin, en yüksek konsantrasyondan en düşük konsantrasyona doğru uyumlu bir şekilde uzadığı belirlenmiş ve üremenin saptandığı süre ile bakteri konsantrasyonu arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Ayrıca, *Enterobacteriaceae* ailesinde tüm bakteri konsantrasyonlarında üremenin saptanma süresi ile bakteri cinsi arasındaki ilişki önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Benzer şekilde, gram-pozitif koklarda her bakteri grubu için üremenin saptandığı ortalama sürenin en yüksek konsantrasyondan en düşük konsantrasyona doğru uyumlu bir şekilde uzadığı belirlenmiş ve üremenin saptandığı süre ile bakteri konsantrasyonu arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Çalışma kapsamında değerlendirilen her üç gram-pozitif kok grubunda da tüm konsantrasyonlarda üremenin saptanma süresi ile bakteri cinsi arasındaki ilişki anlamlı olarak değerlendirilmiştir ( $p < 0.05$ ).

*Enterobacteriaceae* ailesine ait 84 suş ile gram-pozitif kok grubuna ait 95 suşun tamamı tüm konsantrasyonlarda BACTEC 9240 kan kültür sistemi tarafından pozitif olarak belirlenmiş, sistemin *Enterobacteriaceae* ailesi ve gram-pozitif koklar için sonuç validasyonu sağlanmıştır.

Çalışma kapsamına alınan *Candida* suşlarının farklı dilüsyonlarının inoküle edildiği 180 BACTEC kan kültür vasatının 26 (%14.4)'sı BACTEC 9240 kan kültür cihazı tarafından pozitif olarak belirlenmemiş ve bunların yalancı negatif sonuçlar olduğu subkültürlerle doğrulanmıştır. Bunun yanında bazı konsantrasyonlarla üremenin saptandığı ortalama sürelerin uyumlu seyir göstermedikleri gözlenmiş ve çalışmada üremenin saptandığı sürelerde elde edilen en yüksek standart sapma değeri, 1 maya/mL *Candida* inoküle edilen kan kültür vasatlarında tespit edilmiştir. Ancak istatistiksel değerlendirmede *Candida* konsantrasyonu ile pozitif sonuç verme süresi arasındaki ilişki ve tüm konsantrasyonlarda üremenin saptanma süresi ile cins arasındaki ilişki önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Benzer biçimde, farklı dilüsyonlarda nonfermentatif bakterilerin inoküle edildiği 180 BACTEC kan kültür vasatının takibinde 43 (%23.9) yalancı negatif sonuç belirlenmiştir. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucunda nonfermentatif bakteriler için üremenin saptandığı ortalama sürenin bakteri konsantrasyonu ile uyumlu olmadığı belirlenmiştir. Diğer grupların aksine nonfermentatif bakteri grubunda bakteri konsantrasyonu ile üremenin saptandığı süre arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ( $p > 0.05$ ), tüm konsantrasyonlarda üremenin saptanma süresi ile bakteri cinsi arasındaki ilişki önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bu sonuçlarla BACTEC 9240 kan kültür cihazının *Candida* ve nonfermentatif bakteriler için sonuç validasyonu sağlanamamıştır.

**Tablo 3. Çalışmada değerlendirilen 239 mikroorganizma dilüsyonunun en kısa (min) ve en uzun (maks) pozitif saptanma süreleri, ortalama, median ve standart sapma değerleri**

Mikroorganizma	Dilüsyon	Ortalama (saat)	Standart sapma	Median (saat)	Min (saat)	Maks (saat)
• Toplam (n= 239)	DİL 1	9.83	12.68	6.94	0.00	153.48
	DİL 2	12.43	10.34	9.63	0.00	105.78
	DİL 3	14.35	14.91	10.84	0.00	175.54
	DİL 4	15.14	11.19	12.10	0.00	127.11
	DİL 5	15.55	10.38	12.68	0.00	97.96
	DİL 6	16.02	15.59	13.21	0.00	137.62

Takip edilen 1434 hemokültürün 1365'inde kan kültür sistemi tarafından pozitif sonuç tespit edilmiş; boyama ve subkültürlerle sonuçlar doğrulanmıştır. Toplam 69 kan kültür şişesinde sistem beş günlük inkübasyon süresinin bitiminde pozitif sonuç vermemiştir. Bu kan kültür şişelerinden yapılan boyama ve subkültürler ile sistemin yalancı negatif sonuç verdiği doğrulanmıştır. Sterilite kontrolü için takip edilen kan kültür şişelerinin hiçbirinde üreme tespit edilmemiştir.

Tüm mikroorganizmalar için çalışma dilüsyonlarının minimum ve maksimum pozitif saptanma süreleri ile bu sürelerin ortalama, median değerleri ve standart sapmaları, Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tüm mikroorganizma grupları topluca değerlendirildiğinde BACTEC 9240 kan kültür sistemi tarafından üremenin saptandığı ortalama sürenin en yüksek konsantrasyondan en düşük konsantrasyona doğru uyumlu bir şekilde, 9.83-16.02 saat aralığında değişim gösterdiği, standart sapma değerlerinin 10.34-15.59 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Bu sonuçlarla stafilocok, enterokok, beta-hemolitik streptokok, *Enterobacteriaceae* ailesi ve kandidaların oluşturduğu çalışma grupları için mikroorganizma konsantrasyonu ile üremenin saptanma süresi arasındaki ilişki önemli bulunurken ( $p < 0.05$ ), nonfermentatif bakteri grubunda bakteri konsantrasyonu ile üremenin saptanma süresi arasındaki ilişki önemli bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

## TARTIŞMA

Dolaşım sistemi infeksiyonuna yol açan patojenlerin izole edilmelerinde kullanılan sistemin doğruluğunun dokümanite edilmesi ve validasyonu önem taşı-

maktadır. Otomatize kan kültür sistemlerinin kalite kontrol işlemleri rutin prosedürler içerisinde gerçekleştirilebilir. İnokülasyon yöntemi ile yapılan kalite kontrol çalışmasında belirtilen ATCC suşlarının uygun besiyerlerine yapılmış subkültürlerinden 0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanan süspansiyonları 1/100'lük seri dilüsyonlar yapılarak 100 koloni oluşturan birim (kob)/mL'lik inokulum elde edilir; bu süspansiyondan 50 kob içeren 0.5 mL alınarak 5-10 mL kan ile birlikte kan kültür vasatlarına ekilir ve bakteri inoküle edilmiş kan kültür vasatlarının 48 saat içinde kan kültür cihazı tarafından pozitif olarak saptanması beklenir<sup>[5]</sup>.

Çalışmamızda en düşük mikroorganizma konsantrasyonunun 1 kob/mL olması sağlanmıştır; çünkü, erişkin bakteremilerinde mL'deki kob/mL genellikle çok düşüktür. Erişkin hasta örneklerinde yapılan bir araştırmada, *S. aureus* bakteremilerinin %25, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakteremilerinin %50'den fazlasında kandaki bakteri konsantrasyonunun 1 kob/mL'den az olduğu belirlenmiştir<sup>[6]</sup>. Kellogg ve arkadaşlarının araştırması sonucunda da 137 pediatrik septisemili olgunun %60'ında 10 kob/mL'den, %23'ünde ise 1 kob/mL'den düşük konsantrasyonda bakteremi saptanmıştır<sup>[7]</sup>.

Gram-pozitif koklar ve *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri, kan kültürlerinde en sık izole edilen mikroorganizmalardır; bu sebeple çalışmamızda öncelikle bu mikroorganizma grupları için kan kültür sisteminin sonuç validasyonunun sağlanması amaçlanmıştır. Cohen ve arkadaşları benzer bir deneysel çalışmada *Staphylococcus epidermidis*'in  $< 10$  kob/mL,  $> 50$  kob/mL ve  $> 100$  kob/mL'lik konsantrasyonları ve

BACTEC pediatrik plus F kan kültür vasatlarını kullanarak pozitif olarak belirlenme süresi ile inoküle edilen bakteri konsantrasyonunun ters orantılı olduğunu, bu verilerin *S. epidermidis* izole edilen kan kültürlerinde gerçek patojen/kontaminasyon ayırımında kullanılabilceğini belirtmişlerdir<sup>[8]</sup>.

Schelonka ve arkadaşları < 1 kob/mL, 1-4 kob/mL ve > 4 kob/mL konsantrasyonlarında Grup B streptokok, *E. coli* ve *S. epidermidis* suşları için daha yüksek mikroorganizma konsantrasyonu içeren örneklerin daha kısa sürede belirlendiği sonucunu saptamışlardır<sup>[9]</sup>. Bu veriler, çalışmamızda gram-pozitif kok ve *Enterobacteriaceae* ailesi üyesi gram-negatif basiller için elde edilen sonuçlar ile uyumludur.

Shigei ve arkadaşları, 13.471 hasta kan kültür örneğinin, BACTEC 9240 kan kültür cihazında beş günlük inkübasyonu sonrası yaptıkları subkültürlere dayanarak, kan kültür cihazının %6 oranında hatalı negatif sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Kan kültür cihazının hatalı olarak negatif belirlediği örneklerde *Enterobacteriaceae* ailesi üyesi saptanmaması çalışmamız ile uyumlu bir veridir; 21 *Staphylococcus* spp. suşunun BACTEC 9240 kan kültür cihazı tarafından belirlenemeyip subkültürlerde izole edilmesi çalışmamızın *Staphylococcus* spp. grubu sonuçları ile çelişmektedir. Bu çalışmada hasta kan örneklerindeki bakteri konsantrasyonunun 1 kob/mL'den az olmasından dolayı böyle bir farklılığın ortaya çıkmış olması mümkündür<sup>[10]</sup>. Çalışmamızda deneysel olarak mikroorganizma inoküle edilmiş 1434 kan kültür şişesi izlenmiş; beş günlük inkübasyon süresinin bitiminde 69 yalancı negatif sonuç elde edilmiştir. Çalışmamızda yalancı negatiflik oranı %4.8'dir.

Çalışmamızda pozitifleşme sürelerinde en yüksek standart sapma 1 kob/mL *Candida* inoküle edilen kan kültür vasatlarında 39.3 olarak saptanmıştır. Schelonka ve arkadaşlarının *Candida albicans* suşlarının < 1 kob/mL, 1-4 kob/mL ve > 4 kob/mL'lik dilüsyonları ile yaptıkları çalışmada, üremenin saptandığı ortalama sürelerin konsantrasyonla uyumlu seyir göstermediği ve örnekteki *C. albicans* miktarının pozitif olarak belirlenme zamanını etkilemediği sonucuna varılmıştır<sup>[9]</sup>. Bu veriler çalışmamızda saptadığımız yüksek standart sapma değerlerini desteklemektedir.

Klaerner ve arkadaşları BacT/Alert kan kültür sisteminde yedi günlük inkübasyon sonunda tüm gram-

pozitif bakteriler ve *Enterobacteriaceae* ailesine ait türleri belirlemiş, ancak *Candida* spp. türlerinin %27.3'ünü saptayamamışlar ve bunu subkültür sonuçlarıyla da doğrulamışlardır<sup>[11]</sup>. Çalışmamızda *Candida*'lar için yalancı negatiflik oranı %14.4'tür.

Durmaz ve arkadaşlarının BACTEC 9120 kan kültür sistemini kullanarak yaptıkları çalışmada, 11.156 kan kültürünün %33.0'ında klinik olarak anlamlı mikroorganizmalar izole edilirken, yedi günlük inkübasyon sonunda yapılan Gram boyama ve subkültürler ile yalancı negatif olduğu belirlenen vasatlardan birinde *C. albicans* suşu izole edilmiştir<sup>[12]</sup>.

Thorpe ve arkadaşları BACTEC kan kültür sisteminin yedi günlük inkübasyon sonunda pozitif olarak belirleyemediği bir kan kültür vasatından subkültür sonucu *Candida tropicalis* izole edildiğini bildirmişlerdir<sup>[13]</sup>.

Vigano ve arkadaşlarının BACTEC 9240 ve BacT/Alert kan kültür sistemlerini, mikroorganizmaların üremelerinin saptandığı ortalama süreler açısından karşılaştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, BacT/Alert sisteminin üç mantar izolatını belirleyemediği tespit edilmiştir<sup>[14]</sup>.

Bizim çalışmamız ve diğer çalışmaların sonuçları ışığında BACTEC 9240 kan kültür sisteminde fungemili hasta örneklerinde yalancı negatif sonuçların gözlenebileceği düşünülmüştür. Vigano ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada mantarların yavaş üremesi ve normal kan kültür vasatlarında bazı durumlarda saptanamaması nedeniyle, immünyetmezliği olan ve fungal infeksiyonlar için yüksek risk altındaki diğer hastalarda aerop ve anaerop vasatların yanında özel olarak geliştirilmiş selektif fungal vasatların kullanımı önerilmektedir<sup>[14]</sup>.

Çalışmamızda farklı klinik örneklerden izole edilmiş *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp.'den oluşan toplam 30 nonfermentatif bakteri değerlendirilmiştir. BACTEC 9240 kan kültür sistemi tarafından nonfermentatif bakteriler için üremenin saptandığı ortalama sürenin bakteri konsantrasyonu ile uyumlu olmadığı belirlenmiştir. BACTEC 9240 kan kültür cihazı beş günlük inkübasyon sonunda farklı dilüsyonlarda nonfermentatif bakteri inoküle edilmiş toplam 180 kan kültür vasatından 43'ünde pozitiflik saptanmamıştır.

Ziegler ve arkadaşlarının BACTEC 9240 ve BacT/Alert kan kültür sistemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında BACTEC 9240 kan kültür sistemi için yalancı negatiflik oranının %0.20 olduğu ve bunların da %22.2'sini *Pseudomonas* izolatlarının oluşturduğu tespit edilmiş, BacT/Alert sistemi için yalancı negatiflik oranı %0.32 olarak belirlenmiş ve bunların %64'ünün *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. ve *Stenotrophomonas maltophilia*'dan kaynaklandığı saptanmıştır<sup>[15]</sup>.

Shigei ve arkadaşları araştırmalarında BACTEC 9240 kan kültür sisteminin 13.471 hasta kan örneğinin %6'sında yalancı negatif sonuç verdiğini saptamışlardır. Yalancı negatif kültürlerin önemli bölümünü (%35) *Pseudomonas* spp.'nin oluşturması, bizim çalışmamızın sonuçları ile uyumludur. Bu çalışmada yalancı negatif sonuçları belirlemek için yapılan subkültürlerde bakteri üremesinin yoğun olması nedeniyle BACTEC kan kültür vasatlarının mikroorganizma üremesini sağladığı, fakat BACTEC 9240 kan kültür cihazının bu üremeyi belirleyemediği sonucuna varılmıştır<sup>[10]</sup>.

Nolte ve arkadaşları BACTEC 9240 kan kültür sisteminin yalancı negatif sonuçları olarak değerlendirdikleri 17 kan kültür vasatının dördünde *P. aeruginosa*, birinde *Pseudomonas vesicularis* ve birinde *S. maltophilia* izole etmişlerdir<sup>[16]</sup>.

Vigano ve arkadaşlarının BACTEC 9240 ve BacT/Alert kan kültür sistemlerini mikroorganizmaların üremelerinin saptandığı ortalama süreler açısından karşılaştırmak amacıyla yaptıkları çalışmalarında, bir *Acinetobacter lwoffii* suşu BacT/Alert sistemiyle belirlenememiştir. Bu çalışmada BACTEC 9240 kan kültür cihazının saptayamadığı nonfermentatif bakteri olmamıştır<sup>[14]</sup>.

Klaerner ve arkadaşları BacT/Alert kan kültür sistemini değerlendirdikleri çalışmalarında, subkültürlerle nonfermentatif mikroorganizmalar oldukları saptanan izolatların %40.5'inin pozitif olarak belirlenemediğini bildirmişlerdir<sup>[11]</sup>. Çalışmamızda nonfermentatif bakteriler için yalancı negatiflik oranı %23.9'dur. Nonfermentatif türlerin logaritmik üreme fazından sonra CO<sub>2</sub> üretiminin düşük seviyede kaldığı bir durağan faza ve durgun durum konsantrasyonuna ulaşmaları bunun sebebi olabilir<sup>[11]</sup>.

Sonuç olarak; bu çalışmada BACTEC 9240 kan kültür sisteminin *Candida* ve nonfermentatif bakteriler için sonuç validasyonu sağlanamamıştır. Buna göre kan kültür sistemimizin beş günlük inkübasyon süresi sonunda negatif saptadığı kan kültür vasatlarından boyama ve subkültür yapılmasının hatalı negatif sonuçları önleyebileceği ve mantar infeksiyonu şüphesi bulunan hastaların kan örneklerinin aerop ve anaerop kan kültür vasatlarının yanı sıra özel fungal vasatlara inoküle edilmesi ve inkübasyonun 21 güne uzatılmasının uygun olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. *Bloodstream infections*. In: Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (eds). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 12<sup>th</sup> ed. St. Louis: Mosby Inc, 2007:778-97.
2. Bilgehan H. Kanın mikrobiyolojik incelenmesi. Bilgehan H (editör). *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. 3. Baskı. İzmir: Fakülter Kitabevi, 2002:317-28.
3. *Infections of the blood*. In: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Procop GW, Woods GL (eds). *Koneman's Color Atlas & Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6<sup>th</sup> ed. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, 2006:97-105.
4. Elder BL, Hansen SA, Kellogg JA, Marsik FJ, Zabransky RJ. Verification and validation of procedures in the clinical microbiology laboratory [31]. In: McCurdy BW (ed). *CUMITECH: cumulative techniques and procedures in clinical microbiology*. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1997.
5. Gagne CA, Berman M. Instrument maintenance and quality control: Blood culture instrument. In: Isenberg HD (ed). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 1<sup>st</sup> ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1992: 12.5.1-12.5.19.
6. Croft AC, Woods GL. Specimen collection and handling for diagnosis of infectious diseases. In: McPherson RA, Pincus MR (eds). *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 21<sup>st</sup> ed. China: Saunders Elsevier, 2007:1188-203.
7. Kellogg JA, Manzella JP, Bankert DA. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. *J Clin Microbiol* 2000;38:2181-5.
8. Haimi-Cohen Y, Vellozzi EM, Rubin LG. Initial concentration of *Staphylococcus epidermidis* in simulated pediatric blood cultures correlates with time to positive results with the automated continuously monitored BACTEC blood culture system. *J Clin Microbiol* 2002;40:898-901.
9. Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA, Hensley D, Brockett RM, Ascher DP. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *J Pediatr* 1996;129:275-8.

10. Shigei JT, Shimabukuro JA, Pezzlo MT, de la Maza LM, Peterson EM. Value of terminal subcultures for blood cultures monitored by BACTEC 9240. *J Clin Microbiol* 1995;33:1385-8.
11. Klaerner HG, Eschenbach U, Kamereck K, Lehn N, Wagner H, Miethke T. Failure of an automated blood culture system to detect nonfermentative gram-negative bacteria. *J Clin Microbiol* 2000;38:1036-41.
12. Durmaz G, Us T, Aydinli A, Kiremitci A, Kiraz N, Akgün Y. Optimum detection times for bacteria and yeast species with the BACTEC 9120 aerobic blood culture system: Evaluation for a five-year period in a Turkish university hospital. *J Clin Microbiol* 2003;41: 819-21.
13. Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, DiGuseppi JL, Willert M, Mirrett S, et al. BacT/Alert: An automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Microbiol* 1990;28:1608-12.
14. Viganò EF, Vasconi E, Agrappi C, Clerici P. Use of simulated blood cultures for time to detection comparison between BacT/Alert and BACTEC 9240 blood culture systems. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;44:235-40.
15. Ziegler R, Johnscher I, Martus P, Lenhardt D, Just HM. Controlled clinical laboratory comparison of two supplemented aerobic and anaerobic media used in automated blood culture systems to detect bloodstream infections. *J Clin Microbiol* 1998;36:657-61.
16. Nolte FS, Williams JM, Jerris RC, Morello JA, Leitch CD, Matushek S, et al. Multicenter clinical evaluation of a continuous monitoring blood culture system using fluorescent-sensor technology (BACTEC 9240). *J Clin Microbiol* 1993;31:552-7.

**Yazışma Adresi/Address for Correspondence**

Uzm. Dr. A. Esra KARAKOÇ

SB Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Merkez Laboratuvarı Binası 2. Kat

Ulucanlar Caddesi

06340 Cebeci, Ankara-Türkiye

E-posta: aesrakarakoc@yahoo.com