

Spontan bakteriyal peritonitli olgularda asit sıvısı kültür yöntemlerinin karşılaştırılması

Comparison of ascites fluid culture methods in patients with spontaneous bacterial peritonitis

Dr. J. Sedef BENGİSUN, Dr. Eyüp SELVİ, Dr. Elif ARIBAL, Dr. Şükran YAVUZDEMİR, Dr. Haluk ATAÖĞLU, Dr. Selim KARAYALÇIN

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Ankara

ÖZET: Asit'in özel komplikasyonu olan Spontan Bakteriyal Peritonit (SBP) asit sıvısı enfeksiyonunun spontan olarak geliştiği klinik durumu tanımlar. %30-50 arasında mortalite taşıyan SBP'de erken ve doğru tanı konması bu nedenle çok önemlidir. Konvansiyonel kültür yöntemlerinin tanıda esas kabul edilmesine karşın zaman alıcı ve duyarlılığının düşük olması en önemli dezavantajlarını oluşturur. Bu amaçla klinik olarak SBP şüpheli 14'ü erkek, 9'u kadın toplam 23 sirozlu olguda hem konvansiyonel, hem de Tryptic soy broth içeren kan kültür şişelerine yatak başında asit sıvısı ekme esasına dayanan modifiye yöntem ile kültür yapılarak iki yöntem karşılaştırıldı. Modifiye yöntem ile 14 (%60.8) olguda, konvansiyonel yöntem ile sadece 4 (%17.3) olguda kültür pozitif sonuç alınması ($p<0.001$) yanında modifiye yöntem ile 11(%91.6) olguda, konvansiyonel yöntem ile 1 (%8.3) olguda ilk 24 saat içinde kültürde üreme olması modifiye yöntemin daha hassas olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Spontan bakteriyal peritonit, kültür yöntemleri

SUMMARY: Spontaneous bacterial peritonitis, which is a complication of ascites describes the condition in which the infection of ascites fluid occurs spontaneously. The early and accurate diagnosis is highly desirable, since the mortality rate in SBP is %30-50. Although the conventional culture methods are the main diagnostic tools, they are time-consuming and have low sensitivity. We therefore compared the conventional culture method with the modified bed-side method, which is based on using Tryptic soy broth in blood culture bottles. The ascites fluid from 23 cirrotic patients (9 female, 14 male) who were suspected of SBP were bacteriologically evaluated by the two above methods. The culture positive cases with the modified and conventional methods were 14(%60.8) and 4 (%17.3) respectively ($p<0.001$). Besides the positive cultures within 24 hours, with the modified and conventional were found in 11(%91.6) and 1 case (%8.3) respectively. These results suggest that the modified method is more sensitive than the conventional method.

Key words: Spontaneous bacterial peritonitis, culture methods

SPONTAN bakteriyal peritonit (SBP) özellikle sirozlu hastalarda sık görülen ve mortalitesi yüksek bir komplikasyondur. SBP tanısında öncelikle klinisyenin SBP'ten şüphelenmesi ve mutlaka abdominal parasentez yaparak etken mikroorganizmanın üretilmesi gereklidir. SBP tanısı için kültür sonucu ve polimorfonükleer (PMN) hücre sayısı esas alınmaktadır. Asit sıvısından etken mikroorganizmanın üretilmesinde çeşitli kültür teknikleri geliştirilmiştir.

Biz de klinikte kolay uygulanabilen, fazla miktarda asit sıvısının hemen yatak başında, zenginleştirilmiş kan kültür şişelerine ekiminin yapıldığı (modifiye) yöntemin şimdiye kadar kullanılan konvansiyonel yöntemlere göre daha etkin olduğunu göstermek için bu çalışmayı yaptık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Kasım 1991 ile Eylül 1992 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalında yatarak tedavi gören biopsi ile karaciğer sirozu tanısı almış hastalardan son 7 günde antibiyotik kullanmamış, cerrahi girişim gerektirmeyen, abdominal enfeksiyon odağı olmayan ve hiçbir neden olmadan klinik ve mental durumunu bozulan veya ateş, karın ağrısı, defansı olan hastalar SBP'den şüphelenilerek çalışmaya alındı.

Çalışma grubumuzu oluşturan 14'ü erkek, 9'u kadın toplam 23 olgunun yaş dağılımı ve ortalamaları Tablo 1 sunulmuştur.

Hastalardan steril eldiven kullanılarak ve beta-din ile abdominal asepsi sağlanarak diüretik tedavisi yapılmadan önce steril enjektör ile para-

Tablo 1. Olguların yaş ve cins dağılımı

cins	olgu	yaş dağılımı	ortalama yaş
Erkek	14	28-66	51.4
Kadın	9	20-60	35.7

Toplam 23 olgu

sentez yapılarak asit alındı. Alınan 50 cc asit sıvısının 10 cc'si hemen yatak başında içinde 100 cc Tryptic soy broth Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AnaBilim Dalı laboratuvarlarında incelendi. 10 cc sıvı steril şartlarda delikleri 0.22 mikrometre olan membran filtreden (sellüloz asetat filtre) süzüldü ve membran benzer besiyerine ekildi ve 35 C°'de 7 gün inkübe edilen besiyerleri hergün kontrol edilerek mikroorganizma rutin laboratuvar yöntemleri ile tiplendirildi.

Geri kalan sıvıdan ise konvansiyonel besiyerlerine; kanlı agar, Mc Concey agar, Sabouraud dextrose agar (37 C° ve oda ısısı), çikolatamsı agar (CO₂ li ortam), Scheadler agar (Gas Pack) besiyerlerine 2 ml ekim yapıldı ve 7 gün süre ile izlendi.

Kültür ekimleri yanısıra sıvıdan ve santrifüje edilen sedimentten Gram boyama yöntemi ile direk preparat hazırlandı.

BULGULAR

Çalışmaya aldığımız SBP şüpheli 23 olgunun asit sıvısından konvansiyonel ve modifiye yöntemler ile yapılan kültürlerin sonuçları Tablo 2'de gösterildi. Modifiye yöntem ile kültürde mikroorganizma üretilebilmesi, konvansiyonel yöntemle göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$).

Asit sıvısının yatak başında Tryptic soy broth içeren besiyerine ekilmesi ile laboratuvarda sıvının süzülmesini takiben membranların benzer besiyerine ekilmesi arasında üreme yönünden bir fark bulunamadı.

Kültürde üreme olan olgularda üreme sürelerine bakıldığında 24 saat içinde üreme olan 12 olgumuzun 11'i (%91.6) modifiye yöntem ile üreme olurken konvansiyonel yöntem ile sadece 1 (%8.3) olgumuzda üreme oldu ($p<0.001$). 24 saatten sonraki üreme oranı ise her iki yöntemle de aynı bulundu.

Tüm olgularımızda tek mikroorganizma üredi. Kültürde üreyen mikroorganizmaların türlerine bakıldığında (Tablo 3) en sık %62.5 aerob gram negatif basil üretken, bunu %37.5 ile aerob gram

Tablo 2. Kültür yöntemlerinin karşılaştırılması

Kültür sonucu	Konvansiyonel yöntem	Modifiye yöntem
Pozitif	4 (%17.4)	14 (%60.8)
Negatif	19 (%82.6)	9 (%39.1)
Toplam	23	23

pozitif mikroorganizmaların izlediği görüldü. Çalışmamızda anaerob bakteri ve mantar üremesi izlenmedi.

Asitin alınmasından hemen sonra Gram yöntemi ile yapılan boyamada 2 olgudan 1'inde gram (+) kok, diğerinde gram (-) basil görülürken, diğerlerinde herhangi bir mikroorganizma izlenmedi.

Asit sıvısından yapılan diğer incelemelerde PMN hücre sayısı ve protein miktarının kültür pozitifliği ile yakın korelasyon gösterdiği saptandı (Tablo 4).

Child sınıflamasına göre hastalarımızın 20'sinin (%86.9) Child C grubunda olduğu ve 14'ünde (%60.8) kültür pozitif sonuç alındığı saptandı. Child B grubundaki 3 olgumuzdan 2'si de kültür pozitif olarak belirlendi.

TARTIŞMA

Son 10 yılda SBP konusunda en önemli ilerleme kültür tekniklerinde olmuştur. Asit sıvısının infeksiyonunda sıvı içinde bakterilerin dilüe olduğu ve ortalama 1 ml'sinde 1 organizma bulunduğu bilinmektedir (1,2). Bu nedenle 2 ml'den daha az miktarlarda sıvı ekimi yapılan konvansiyonel besiyerlerinde üremenin az olması beklenen bir sonuçtur. Böyle olduğunu düşünen araştırmacılar sıvının 2 ve 5 ml gibi miktarlarda veya santrifüj edilerek sedimentinin ekimi gibi konvansiyonel yöntemde modifikasyonlar geliştirmişlerdir. Ancak üremede bir miktar artış izlenmekte beraber, istenilen sonuca ulaşamamıştır (1).

Sediment ile ekim yapılmasında başarının az olması muhtemelen aynı anda sediment içinde canlı nötrofillerin de bulunması ve bakterileri öldürmesinden dolayıdır. Daha sonra hassas olduğunu göstermişlerdir (1). Konvansiyonel yöntemler yerine son yıllarda yaygın olarak kullanılan 100 cc Tryptic soy broth içeren kan kültür şişelerine yatak başında 10 ml ekim yapılmasının optimal teknik olduğu ve rutinde kullanılmasının gerektiği Runyon tarafından önerilmiştir (1,2).

Çalışmamızda uyguladığımız bu modifiye yöntemde asit sıvısı fazla miktarda (10 ml) ekilmekte, böylece üreme şansı artmaktadır. Bu besiyerlerinin ekilen sıvıda tek bir mikroorganizma

Tablo 3. İzole edilen bakteriler

Mikroorganizma	Konvansiyonel yöntem	Modifiye yöntem	Toplam
Escherichia coli	2	7	9
Klebsiella sp	1	2	3
Staphilococcus koagulaz (-)	-	3	3
Streptococcus sp	1	2	3

olması halinde bile üremeyi mümkün kıldığı gösterilmiştir (1,2).

Asit sıvısında opsonik aktivite inhibitörü bulunması, mikroorganizmanın dilüe olduğu asit sıvısından az miktarlarda ekimin yapıldığı konvansiyonel yöntemde mikroorganizma üretmenin zorluğu yanısıra üreme gerçekleşinceye kadar geçen zamanın uzun olması da üremeyi zorlaştırmaktadır (3).

Çalışmamızda farklı olarak steril şartlarda sıvıyı membran filtreden süzerek membranın ekiminin yapılmasının hassasiyeti arttıracaklarını düşündük. Genellikle bakterileri süzmek için 0.45 mikrometre por çapında membran filtreler yeterli ise de bu çalışmada 0.22 mikrometre por çapında filtreleri kullanmamıza rağmen anlamlı bir fark bulamadık.

Bunu da yine laboratuara nakil ve süzme işlemleri sırasında devam eden opsonik aktivitenin bakterileri öldürmesinden olabileceği kanısındayız.

SBP tanısında kültürde üremenin yanısıra asit PMN hücre sayısında çok önemlidir. Hatta kültür sonucunu beklemeden asit PMN hücre sayısı 500/mm³ den fazla ise ve klinik tablo ile uyumlu ise erken antibiyotik tedavisi başlama kararı verilir (4). Eğer klinik tablonun yanısıra PMN hücre sayısı artmış asit sıvısı aksi ispatlanmadıkça enfekte kabul edilmektedir.

Asit sıvısında enfeksiyonun gösterilmesi için kültür yöntemlerinin yanısıra çok çeşitli biyokimyasal çalışmalar yapılmış ise de PMN hücre sayısının en önemli kriter olduğu, diğer tetkiklerin ise yardımcı rol oynadığı görülmüştür (5). Ayrıca in-

Tablo 4. Asit protein düzeyi ve kültür sonuçları

Kültür sonucu	Protein düzeyi		PMN hücre sayısı	
	<1 gr/dl	>1 gr/dl	< 250	> 250
Pozitif	13 (%92.8)*	3 (%33.3)	3	13
Negatif	1 (%7.1)*	6 (%66.6)	3	4
Toplam	14	9	6	17

*p<0.001

fekte asitli olguların hemen tamamında asit protein düzeyi düşük bulunmuştur. Düşük protein düzeyi enfeksiyon ve rekürrens için çok önemli risk faktörü olduğu kabul edilmiştir(4,6).

Kültürlerde üreyen mikroorganizmaların çoğunun enterik kaynaklı aerobik gram (-) bakteri oluşu ve bunu aerobik gram (+) bakterilerin izlemesi Batı toplumlarındaki çalışmalarla uyumlu bulundu (1-4,7,8).

Literatürdeki büyük seri çalışmalarda bile Gram yöntemiyle boyamada anlamlı sonuçlar alınmadığı bildirilmektedir. Çalışmamızda da Gram yöntemiyle boyamada sadece 2 olguda bakteri görülmesi bu yöntemin tek başına tanı için yetersiz olduğunu göstermektedir (1,2,7,8).

Asit sıvısında bakterilerin dilüe olacağı düşünülürse 10 cc gibi fazla miktarlarda ekimlerin yapıldığı modifiye yöntemin, 2 ml'den daha az miktarların ekildiği konvansiyonel yöntemlere göre daha hassas olması şaşırtıcı değildir. Üstelik modifiye yöntemde hemen yatak başında ekim yapılarak nakil sırasında devam eden opsonik aktivite etkisi ile bakterilerin ölmesinin engellenmesi modifiye yöntemin hassasiyetini arttırmaktadır.

Sonuç olarak intraperitoneal sıvının spontan enfeksiyonu olan SBP'den şüphelenilen sirozlu olgularda kesin tanı koymada gerekli olan kültür için asit sıvısının 10 ml'sinin hemen yatak başında 100 cc Tryptic soy broth içeren kan kültür şişelerine ekimin yapıldığı modifiye yöntemin rutin yapılması gerektiği kanısına vardık.

KAYNAKLAR

- Runyon BA, Canawati AN, Akriviadis EA: Optimization of ascitic fluid culture technique. Gastroenterology 1988; 95: 1351-55.
- Runyon BA: Spontaneous bacterial peritonitis; an explosion of information. Hepatology 1988; 8:171-5.
- Bobadilla M, Sifuentes J, Garcia- Tsao G: Improved method for bacteriological diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. J. Clin. Microbiol 1989; 27:2145-47.
- Garcia-Tsao G: Spontaneous bacterial peritonitis. Gastroenterology Clinics of North America, 1992; 21:257-75.
- Lee HH, Carlson RW, Bull DM: Early diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis: values of ascitis fluid variables. Infection 1987; 15:232-6.
- Tito L, Remola A, Gines P: Recurrence of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: frequency and predictive factors. Hepatology 1988; 8:27-31.
- Castellote J, Xiol X, Verdeguer R: Comparison of two ascitis fluid culture methods in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. Am. J. Gastroenterol. 1990; 85:1605-8.
- Runyon BA: Ascitic fluid culture technique. Hepatology 1988; 8:983-5.