

Evaluation of Automated Blood Culture System for Body Fluids Culture Other Than Blood

Tae Yeal Choi¹, Jung Oak Kang¹, Hyun Joo Pai²

Departments of ¹Laboratory Medicine, ²Internal Medicine, Hanyang University Medical School, Seoul, Korea

Background: We investigated whether culture using an automated blood culture system enhances the recovery of bacteria and fungi from body fluids other than blood when compared to conventional solid media culture methods.

Methods: A total of 734 specimens [ascites (n=457), bile (n=5), CAPD (n=28), CSF (n=32), joint fluids (n=165), pericardial fluid (n=17), and pleural fluid (n=30)] were included in the study. Half of the volume of each specimen was inoculated directly into automated blood culture bottles (bioMeriux, Marcy-l'Etoile, France). The remaining volume was inoculated onto conventional solid media (sheep blood agar, chocolate agar, and phenylethyl alcohol agar) after centrifuging at 3,000 rpm for 10 min.

Results: Clinically significant microorganisms were isolated from 62 specimens (8.5%) by automated blood culture and 61 specimens (8.3%) by the conven-

tional solid media culture (kappa index: 0.81, 95% confidence interval: 0.75~0.89). Contamination was observed in 11 (1.8%) of the automated blood culture specimens and 3 (0.4%) of the solid media culture specimens. The mean turnaround times of the automated blood cultures and the conventional solid media cultures were 3.7 and 2.8 days, respectively ($P < 0.0001$).

Conclusion: Compared with conventional culture methods, no improvement in the recovery of clinically significant microorganisms was noted with the use of the automated blood culture system for the culture of body fluids other than blood. (Korean J Clin Microbiol 2011;14:13-17)

Key Words: Culture of body fluids, Automated blood culture system, Solid media culture methods

서 론

체액(복막액, 담즙, 복막투석액, 뇌척수액, 관절활액, 심낭액, 늑막액, 등)에 세균이나 진균이 감염되면 임상적으로 위중한 상태에 빠지므로 원인균을 신속 정확하게 배양하는 것은 매우 중요한 일이다[1-3]. 혈액을 제외한 체액의 배양은 일반적으로 고체배지를 사용하여 배양하여 왔으나, 근자에 혈액배양을 위하여 자동혈액배양법이 사용된 이후로 혈액을 제외한 체액배양에도 액체배지를 이용한 자동혈액배양법을 사용하려는 경향이 있다[2-5]. 그러나 체액배양에 자동혈액배양법을 사용하는 것이 고체배지를 이용한 배양보다 우수하리라는 생각은 아직 논쟁의 대상이 되고 있다[6,7]. 체액배양에서 자동혈액배양법의 사용 목적은 고체배지에서 배양하기 어려운 세균을 진단할 뿐만 아니라 신속히 균의 성장 유무를 알기 위해서이다[2-6]. 그러나 현재 고체배지에 조성 성분의 발달로 오히려 액체배지

보다 균 배양이 뒤지지 않는 것으로 보고되고 있다[6,7]. 뿐만 아니라 자동혈액배양법은 균동정을 위하여 다시 고체배지에 계대배양 하여야 하는 불편과 균 동정의 지연을 초래하고, 오염균의 증가로 인한 업무량 증가 및 추가로 사용되는 고가의 자동혈액배양병 사용 등 경제적인 손실이 있다[7]. 이에 연구자들은 혈액을 제외한 체액배양에서 동일 검체로 자동혈액배양법과 고체배지법을 동시에 실시하여 자동혈액배양법을 평가하였다.

대상 및 방법

1. 대상 검체

2007년 6월부터 2010년 2월까지 복수(457), 담즙액(5), 복막투석액(28), 뇌척수액(32), 관절활액(165), 심낭액(17), 늑막액(30) 등 총 734검체를 자동혈액배양병을 이용한 호기성 및 혐기성 배양을 실시하였으며, 또한 기존에 사용하던 고체배지를 이용하여 호기성 및 혐기성 배양을 동시에 실시하였다.

2. 검사방법

체취 검체의 절반은 호기성 BacT/ALERT[®] SA 및 혐기성

Received 4 May, 2010, Revised 28 June, 2010

Accepted 20 July, 2010

Correspondence: Tae Yeal Choi, Department of Laboratory Medicine, Hanyang University Hospital, 17 Haengdang-dong, Seongdong-gu, Seoul 133-792, Korea. (Tel) 82-2-2290-8974, (Fax) 82-2-2298-1735, (E-mail) tychoi@hanyang.ac.kr

BacT/ALERT® SN (bioMeriux, Marcy-l'Etoile, France) 혈액배양병에 각각 5 mL씩 분주 후 자동혈액배양 기기 BacT/Alert 3D (bioMeriux, Durham, USA)에 장착하여 5일간 배양하였다. 나머지 검체는 3,000 rpm으로 원심분리하여 침사를 혈액한천 배지, 초코렛배지 및 phenylethyl agar에 접종하고 2일간 배양하였다.

3. 결과 판정

각 검체에서 원인균 및 오염균의 판정은 연속 검사에서의 동일 균 검출, 체액 내 세포수, 백분율 및 임상 증상 등을 참조하였다. 배양 결과 보고 시간은 병원 내 전산결과를 이용하였다.

4. 통계처리

두 방법간의 비교는 Kappa index (Kappa index/Agreement: <0.00/Less than chance, 0.00~0.20/Slight, 0.21~0.40/Fair, 0.41~0.60/Moderate, 0.61~0.80/Substantial, 0.81~1.00/Almost perfect)를 사용하였다.

결 과

전체 734검체 중 임상적으로 의의가 있는 균의 발견은 자동혈액배양법/고체배지법에서 각기 62 (8.5%)/61 (8.3%)이었으며, 검체별로는 복수 12 (2.6%)/11 (2.4%), 담즙 4 (80%)/4 (80%),

복막투석액 6 (21.4%)/6 (21.4%), 뇌척수액 3 (9%)/3 (9%), 관절활액 29 (17.6%)/30 (18.2%), 심낭액 0 (0.0%)/0 (0.0%), 늑막액 8 (26.7%)/7 (23.3%)균주가 분리되었다. 임상적으로 의의 있는 세균 종류는 양쪽 모두 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida* spp., *Klebsella* spp., *Streptococcus agalactiae*, *Stenotrophomonas* spp., *Streptococcus* Group G, *Enterococcus* spp. 등이었다. 오염균 발견은 전체적으로 자동혈액배양법과 고체배지법에서 각기 11 (1.4%)과 3 (0.3%)로 자동혈액배양법에서 오염이 많이 보고되었다.

오염균이 배양된 주된 검체는 복막투석액, 관절활액, 뇌척수액이었으며, 오염균의 종류는 *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus capitis* 등이었다(Table 1). 자동혈액배양법과 고체배지법에서 배양 결과의 불일치는 전체적으로는 24/734 (3.3%)였으며, 각 검체별로는 복수 6/457 (1.3%), 담즙 0/5 (0.0%), 복막투석액 6/28 (21.4%), 뇌척수액 4/32 (12.5%), 관절활액 6/165 (3.6%), 심낭액 1/17 (5.9%), 늑막액 1/30 (3.3%)였다(Table 2). 두 방법 간에 Kappa index는 검체에 따라 0.58~1.00로 다소 차이는 있었으나 전체 검체의 Kappa index는 0.81 (95% confidence index: 0.746~0.89)로 두 방법 간에 균배양 검출률에 있어서 차이가 없었다(Table 3).

배양 결과 보고시간은 균이 자라지 않은 경우는 자동혈액배양법이 5일, 고체배지법은 2일이면 “no growth”로 결과가 보고

Table 1. Number of isolates by automatic blood culture system (BC) and solid media culture methods (SM)

Test	Ascite BC/SM	Bile BC/SM	CAPD BC/SM	CSF BC/SM	JF BC/SM	PcF BC/SM	PF BC/SM	Total BC/SM
Clinically significant isolates								
<i>S. aureus</i>	1/0		0/1	1/0	18/19		2/2	22/22
<i>Streptococcus</i> spp.*				0/1	6/7			6/8
<i>Enterococcus</i> spp.†	0/1		1/1		1/1			2/3
<i>S. pneumoniae</i>							1/1	1/1
<i>Enterobacteriaceae</i> ‡	9/7	3/3	3/2	1/1	1/1		1/0	18/14
<i>P. aeruginosa</i>	2/3				1/0		3/3	6/5
Fungus§		1/1	2/2	1/1				4/4
<i>Nocardia</i> spp.					1/1			1/1
<i>M. abscessus</i>					1/1			1/1
<i>Bacteroides</i> spp.							1/1	1/1
Subtotal	12/11	4/4	6/6	3/3	29/30		8/7	62/61
Contaminants								
CNS	1/0		3/1	2/0	3/1	1/0		10/2
Gram+bacilli	1/1							1/1
Subtotal	2/1		3/1	2/0	3/1	1/0		11/3
No growth	443/445	1/1	19/21	27/29	133/134	16/17	22/23	661/670
Total	457/457	5/5	28/28	32/32	165/165	17/17	30/30	734/734

**S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *Streptococcus* β-hemolysis Group G; †*E. faecalis*, *E. faecium*; ‡*E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *P. mirabilis*, *S. marcescens*, *Aeromonas* spp.; §*Candida* spp., *C. neoformans*; ||*S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. hominis*.

Abbreviations: CAPD, continuous ambulatory peritoneal dialysis; CSF, cerebrospinal fluid; JF, joint fluid; PcF, pericardial fluid; PF, pleural fluid; CNS, coagulase-negative staphylococci.

Table 2. Discrepancy of results in automated blood culture system and solid media culture methods

Liquid media	Solid media															
	Ascite		Bile		CAPD		CSF		JF		PcF		PF		Total	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
+	10	4	4	0	7	5	2	3	29	4	0	0	7	1	59	17
-	2	441	0	1	1	15	1	26	2	130	1	16	0	22	7	651

Abbreviations: CAPD, continuous ambulatory peritoneal dialysis; CSF, cerebrospinal fluid; JF, joint fluid; PcF, pericardial fluid; PF, pleural fluid; +, growth; -, no growth.

Table 3. Agreement (Kappa index)* of automated blood culture system and solid media culture methods

Specimens (n)	Kappa index	.95 confidence interval
Ascite (457)	0.777	0.587~0.967
Bile (5)	1.000	1.000~1.000
CAPD (28)	0.576	0.204~0.947
CSF (32)	0.632	0.1637~1.000
Joint (165)	0.856	0.751~0.960
Pericardial (17)	NC	NC
Pleural (30)	0.734	0.446~1.000
Total (734)	0.814	0.736~0.891

*Kappa index/Agreement: <0.00/Less than chance, 0.00~0.20/Slight, 0.21~0.40/Fair, 0.41~0.60/Moderate, 0.61~0.80/Substantial, 0.81~1.00/Almost perfect.

Abbreviation: NC, no calculation.

되었다. 균이 배양된 경우는 자동혈액배양법은 평균 3.7 (SD 1.3일)일, 고체배지법은 2.8 (SD 1.0일)일로 자동혈액배양법이 0.9일(SD 1.1일) 늦게 보고되었다($P=0.003$).

경제적으로는 직접 소모품만 계산하더라도 자동혈액배양법에서는 호기성 및 혐기성 액체배양병이 각기 1개씩 추가로 소모되었다.

고 찰

체액 배양에서 액체배지를 이용한 자동혈액배양법의 사용 목적은 첫째, 검체 내에 항균제가 있을 경우 액체배지에서 희석 및 흡착되며, 둘째, 검체 내에 균 수가 적은 경우 양성률을 높이기 위하여 많은 양의 검체를 접종할 수 있기 때문이다[6]. 특히 복막투석액과 척수액 검체는 검체 내 균 수가 적어 액체배지에 많은 양의 검체를 접종하면 *Propionibacterium* spp.와 coagulase-negative staphylococci (CNS)가 더 많이 배양되었다[7]. Cetin 등[5]은 BACTEC blood culture system (Becton Dickinson Diagnostic Instrument System, Sparks, Md)을 이용하여 뇌척수액이나 관절활액을 배양한 결과 기존의 고체배지를 이용한 방법보다 *Brucella* spp., *Streptococcus* spp., *Aeromonas hydrophila*를 더 많이 발견하였다. 그러나 이들의 논문에서는 균배양 결

과의 통계학적인 차이를 제시하지는 않았고, 배양된 균에 대한 오염균 여부가 명확히 구분되어 있지 않았다. Gibb [6]은 복막투석액과 뇌척수액 검체는 자동혈액배양법에서 많은 양의 검체를 접종할 수가 있어 고체배지배양법보다 우수하다 하였으나, 일반적으로 액체배지에 검체 접종 시 액체배지와 검체와의 비율이 5~10:1이 적합하므로 접종량이 그 이상이 될 때는 오히려 균배양 성적이 안 좋다[8]. Azap 등[3]은 검체 양이 많은 경우는 50 mL tube 등을 사용하여 3,500 rpm에서 10분 원심분리 후 침사를 여러 장의 고체배지에 접종하면 보다 많은 양의 검체를 접종할 수 있으며, 검체 내 항생제도 제거할 수 있어 고체배지 사용을 강조하고 있다. Gibb [6]은 *Neisseria meningitidis* 및 *Haemophilus influenzae* 등 배양이 어려운 세균도 고체배지 구성성분의 발달로 고체배지 사용이 액체배지 사용보다 우수하다고 하였다.

본 연구 결과에서는 전체적으로 임상적으로 의의 있는 균의 배양 결과는 자동혈액배양방법과 고체배지배양법에서 차이가 없었다. 그러나 배양 결과 불일치율이 복막투석액에서 21.4%, 뇌척수액 12.5%로 높았으며, 담즙액에서는 0%, 복수는 1.3%로 낮았다. 이는 복막투석액 및 뇌척수액 내 균의 농도가 낮고 담즙 및 복수액 내 균 농도가 높기 때문인 것으로 생각된다[6]. 연구자도 상대적으로 균 농도가 낮은 복막투석액 같이 검체 양이 많은 경우는 많은 양의 검체 모두를 원침하여 침사를 고체배지에 접종하는 것이 더 타당하리라 생각한다. 배양된 원인균의 분포도 *S. aureus*, *E. coli*, *Candida* spp., *K. pneumoniae*, *S. agalactiae* 등으로 배양 방법에 따른 배양된 균종의 차이가 없었다. 관절활액에서 *Nocardia* spp.와 *Mycobacterium abscessus*가 액체배지에서 2일 만에 배양되었는데 임상 검체의 그람염색 및 AFB 염색에서 쉽게 발견되었을 뿐만 아니라 혈액천배지 및 초코렛배지에서도 동일 균이 2일 만에 배양되었다. 이것으로 보아 현재 국내에서 사용되고 있는 고체배지의 성능이 자동혈액배양법의 액체배지보다 못하지 않았다. 본 연구에서 혐기성 세균의 분리가 저조한 것은 최근 혈액이나 체액에서 혐기성 세균의 감염이 전체적으로 감소하는 추세이고, *Clostridium* spp., *Propionibacterium acne* 등은 배양이 되더라도 오염균일 경우가 많으므로, 복수 및 수술 후 감염 등의 혐기성균의 감염이 의

심되는 경우를 제외하고는 호기성 배양에 치중하여 검체를 사용하는 것이 바람직하다고 생각된다[9].

Dunbar 등[10]은 뇌척수액 배양에서 자동혈액배양법은 6.2%, 기존의 고체배지 사용은 3.8%의 오염률을 나타내어 자동혈액 배양법에서 오염률이 높아 불필요한 검사의 진행과 검사비의 증가를 초래하는 것으로 보고하였다. Meredith 등[7]도 뇌척수액의 액체배양은 CNS, *Propionibacterium* spp.의 오염이 많으므로 반드시 고체배지와 함께 배양하여야 하여야 한다고 하였다. 본 연구에서도 복막투석액, 늑막액, 뇌척수액 등에서 오염이 많았다. 전체적으로도 오염이 고체배지에서는 3건인데 비하여 자동혈액배양법에서는 11건으로 자동혈액배양법에서 오염이 많았다. 고체배지에서 오염률이 낮은 이유 중에 하나는 오염 확률이 높은 균이 소량(1~2 집락) 배양된 경우는 환자의 임상 증상 및 체액 내 세포수 등을 참조하여 “no growth”로 보고한 경우도 있지 않았나 생각된다. 오염균의 종류는 주로 *S. epidermidis* 등의 CNS로 다른 연구자들의 보고와 유사하였다[2-5].

Cetin 등[5]은 BACTEC blood culture system을 이용하여 체액을 배양한 결과 고체배지를 이용한 배양 방법보다 균 배양시간이 짧다고(자동혈액배양법: 9.5시간/고형배지 사용: 38.9시간) 보고하였으나, 이것은 액체배양의 경우 자동혈액배양 기기에서 균 검출 시간이고, 혈액배양병에서 균 배양이 확인되면 균 동정을 위하여 반드시 고체배지에 계대배양하여야 하기 때문에 통상 18~24시간 더 소요된다. 연구자의 결과에서도 “no growth”의 경우 고체배지의 경우는 최소 2일이면 보고를 할 수 있으나 액체배지의 경우는 5일까지 기다려야 하였다. 균 배양 양성의 경우도 자동혈액배양법 3.7일로 고형배지는 2.8일 보다 0.9일 늦게 보고되었다($P=0.003$).

체액 내에 세균을 증명하기 위하여 최근 분자생물학적방법인 중합효소연쇄반응을 시도할 수 있으나 오히려 세균 오염에 의한 위양성의 결과가 있을 수 있어 기존의 고체배지를 사용한 배양법을 대치할 수는 없는 것으로 생각된다[11,12]. 그러나 관절활액에서 임균[13]이나 *Chlamydia trachomatis* [14], *Mycobacterium tuberculosis* [15] 및 *Borrelia burgdorferi* [16] 등의 특수 균의 발견은 중합효소연쇄반응법이 유용한 것으로 보고되고 있다.

결론적으로 혈액 이외의 체액 배양에서 자동혈액배양법을 이용한 액체배지 사용이 기존의 고체배지 사용보다 균배양 양성률이 우수하지도 않았으며, 세균 오염의 증가, 검사 결과 보고의 지연 및 검사비용의 증가가 있었다. 그러므로 혈액을 제외한 체액배양에 자동혈액배양법의 무분별한 사용은 자제하여야 한다.

감사의 글

본 연구 결과의 통계처리를 하여 주신 한양대학교 의과대학

예방의학교실 최보율 교수님께 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Margaretten ME, Kohlwes J, Moore D, Bent S. Does this adult patient have septic arthritis? JAMA 2007;297:1478-88.
- 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;36:3273-7.
- Azap OK, Timurkaynak F, Sezer S, Çağır U, Yapar G, Arslan H, et al. Value of automatized blood culture systems in the diagnosis of continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis. Transplant Proc 2006;38:411-2.
- Akcam FZ, Yayli G, Uskun E, Kaya O, Demir C. Evaluation of the Bactec microbial detection system for culturing miscellaneous sterile body fluids. Res Microbiol 2006;157:433-6.
- Cetin ES, Kaya S, Demirci M, Aridogan BC. Comparison of the BACTEC blood culture system versus conventional methods for culture of normally sterile body fluids. Adv Ther 2007;24:1271-7.
- Gibb AP. Plates are better than broth for recovery of fastidious organisms from some specimen material. J Clin Microbiol 1999; 37:875.
- Meredith FT, Phillips HK, Reller LB. Clinical utility of broth cultures of cerebrospinal fluid from patients at risk for shunt infections. J Clin Microbiol 1997;35:3109-11.
- Clinical and laboratory standards institute. Principles and procedures for blood cultures; Approved guideline. CLSI document M47-A. CLSI, Wayne, PA: 2009.
- Ortiz E and Sande MA. Routine use of anaerobic blood cultures: are they still indicated? Am J Med 2000;108:445-7.
- Dunbar SA, Eason RA, Musher DM, Clarridge JE 3rd. Microscopic examination and broth culture of cerebrospinal fluid in diagnosis of meningitis. J Clin Microbiol 1998;36:1617-20.
- Jalava J, Skurnik M, Toivanen A, Toivanen P, Eerola E. Bacterial PCR in the diagnosis of joint infection. Ann Rheum Dis 2001; 60:287-9.
- Clarke MT, Roberts CP, Lee PT, Gray J, Keene GS, Rushton N. Polymerase chain reaction can detect bacterial DNA in aseptically loose total hip arthroplasties. Clin Orthop Relat Res 2004;(427): 132-7.
- Liebling MR, Arkfeld DG, Micheline GA, Nishio MJ, Eng BJ, Jin T, et al. Identification of *Neisseria gonorrhoeae* in synovial fluid using the polymerase chain reaction. Arthritis Rheum 1994;37:702-9.
- Taylor-Robinson D, Gilroy CB, Thomas BJ, Keat AC. Detection of *Chlamydia trachomatis* DNA in joints of reactive arthritis patients by polymerase chain reaction. Lancet 1992;340(8811):81-2.
- van der Heijden IM, Wilbrink B, Schouls LM, van Embden JD, Breedveld FC, Tak PP. Detection of mycobacteria in joint samples from patients with arthritis using a genus-specific polymerase chain reaction and sequence analysis. Rheumatology (Oxford) 1999; 38:547-53.
- Nocton JJ, Dressler F, Rutledge BJ, Rys PN, Persing DH, Steere AC. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA by polymerase chain reaction in synovial fluid from patients with Lyme arthritis. N Engl J Med 1994;330:229-34.

=국문초록=

자동혈액배양법을 이용한 혈액 이외 체액배양의 평가

한양대학교 의과대학 ¹진단검사의학교실, ²내과학교실

최태열¹, 강정옥¹, 배현주²

배경: 연구자들은 혈액 이외의 체액 배양에서 자동 혈액배양 방법이 세균과 진균 배양에 있어서 기존의 고체배양법과 비교하여 우수한지 알아보기 위하여 연구하였다.

방법: 전체적으로 734검체(복수 457, 담즙 5, 복막투석액 28, 뇌척수액 32, 관절활액 165, 심낭액 17, 늑막액 30)가 본 연구에 사용되었다. 검체의 절반은 직접 자동혈액배양병(bioMerieux, Marcy-l'Etoile, France)에 접종하였고, 나머지는 3,000 rpm에서 10분 원심분리 후 기존의 고체배지에 접종하였다.

결과: 임상적으로 의의가 있는 미생물의 배양 양성은 자동혈액배양법에서 62 (8.5%), 고체배지법 61 (8.3%)로 방법상의 차이가 없었다(kappa index: 0.81, 95% confidence index: 0.75~0.89). 세균 오염은 자동혈액배양법 11 (1.8%), 고체배지법 3 (0.4%)이었다. 결과 보고까지의 시간은 자동혈액배양법과 고체배지법이 각각 3.7일, 2.8일이었다($P=0.003$).

결론: 혈액을 제외한 체액배양에서 자동혈액배양이 기존의 고체배지보다 임상적으로 의의 있는 균 발견에 향상이 없었다. [대한임상미생물학회지 2011;14:13-17]

교신저자 : 최태열, 133-792, 서울시 성동구 행당동 17
한양대학교병원 진단검사의학과
Tel: 02-2290-8974, Fax: 02-2298-1735
E-mail: tychoi@hanyang.ac.kr