



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Kan Kültüründe Üreyen Gram-negatif Çomakların Otomatize Sistemlerle Tanımlanmadan Hızlı Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Metoduyla Üçüncü Kuşak Sefalosporin, Karbapenem ve Seftazidim-Avibaktam Duyarlılığın Tespit Edilmesi

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU

Uzmanlık Tezi

Dr. Muhammed Burak Sevinç

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Seniha Başaran

İSTANBUL

2025



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Kan Kültüründe Üreyen Gram-negatif Çomakların Otomatize Sistemlerle Tanımlanmadan Hızlı Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Metoduyla Üçüncü Kuşak Sefalosporin, Karbapenem ve Seftazidim-Avibaktam Duyarlılığın Tespit Edilmesi

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU

Uzmanlık Tezi

Dr. Muhammed Burak Sevinç

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Seniha Başaran

İSTANBUL

2025

ÖNSÖZ

Tüm eğitim sürecim boyunca her zaman bana destek olan, beni asla geri çevirmeyen, gece-gündüz demeden telefonlarımı cevaplayan, sorularıyla bizi düşündüren, doğru bildiğimiz bilgilere bile eleştirel yaklaşmayı öğreten, klinik görüşünü, tecrübesini bize aktaran, her zaman güvende hissetmeme neden olan ve hakkımı her koşulda savunmayı öğreten abim ve değerli hocam Prof. Dr. Halit Özsüt'e,

Emekli olmadan önce kendisiyle çalıştığım için kendimi şanslı hissettiğim, bana ve arkadaşlarıma her zaman adaletli ve hakkaniyetli olan, bizi dinlerken olan sabrıyla bizi etkileyen, her türlü sorunda kendisinden fikir alabileceğim değerli hocam Prof. Dr. Haluk Eraksoy'a,

Asistanlık eğitimimde ve tez sürecim boyunca bana olan desteğiyle dönüm noktam olarak saydığım, bana bilimselliği ve araştırmayı sevdiren, bilgisine ve tecrübesine her zaman güvendiğim, hasta yönetimiyle beni etkileyen, sabır ve anlayışıyla benim ve diğer arkadaşlarımla ablası, iyi ki tanışmışım ve birlikte çalışmışım dediğim çok değerli ve sevdiğim ablam ve tez danışmanım Doç. Dr. Seniha Başaran'a,

Bana sadece tıbbi bilgiyi değil kendi hayat tecrübesini de her daim aktaran, her vizitinde yeni bilgiler öğrendiğim, bana klinik bakış açısı kazandıran değerli hocam Prof. Dr. Arif Atahan Çağatay'a,

Bana şüpheli ve dikkatli olmayı öğreten, çalışma disiplinine hayran olduğum ve saygı duyduğum değerli hocam Prof. Dr. Serap Şimşek-Yavuz'a,

Kibarlığı, sakinliği ve iyi iletişimiyle örnek aldığım, akademik başarıma katkı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Oral Öncül'e,

Serviste kendisiyle çalışmaktan mutlu olduğum ve poliklinikte yardımlarını esirgemeyen ablam Dr. Öğr. Üyesi Aysun Benli'ye,

Zarifliğiyle, kibarlığıyla ve yardım severliğiyle bize gerçek bir abla olmaya çalışan ve kendisiyle beraber çalışma şansını yakaladığım ablam Öğr. Gör. Dr. Zeynep Memiş'e,

Asistanlığımın başlangıcından bugüne kadar hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen ve şu an çeşitli yerlerde uzman doktor olarak görev yapan birlikte çalıştığım tüm kıdemlilerime, birlikte çalışmaktan keyif aldığım servis hemşirelerimize, tez sürecim boyunca desteklerini esirgemeyen laboratuvar personellerimiz Melike Özseven, Cem Ülkü ve Faruk Yıldırım 'a, tüm sıkıntılarında yanımda olan, her zaman dertleşebildiğim servis sekreterimiz Sezen Karataş 'a, poliklinik ve kürsü sekreterimize,

5 yıl boyunca çalışmaktan keyif aldığım, birlikte güzel vakit geçirdiğim değerli eşkıdemlerim Lamiya Mammadzada 'ye ve Sezen Özge Özen 'e, dert ortağım ve kardeşim gibi gördüğüm Şükrü Varol ve Murat Hakan Kır 'a, eşkıdem olmasak bile beni eşkıdem artı bir olarak aralarına alan Gülşah Kırımı 'ye, Songül Demirer 'e, Selbi Begmyradova ve dost acı söyler sözünü bizzat bana yaşatan ve hayatımda bir dönüm noktası olarak gördüğüm, beni her daim motive eden değerli ve çok sevdiğim çalışma arkadaşım Berivan Şahin 'e,

Her zaman yanımda olan, bugünlere gelmeme vesile olan canım annem ve babama

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

Dr. Muhammed Burak Sevinç, 2025

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|----|
| ÖZET | 1 |
| ABSTRACT | 3 |
| 1. GİRİŞ | 5 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 7 |
| 2.1. Sepsis | 7 |
| 2.2. Kan kültürü | 7 |
| 2.3. Kan dolaşım infeksiyonu | 7 |
| 2.4. ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTLERİ | 8 |
| 2.4.1 KLASİK ADT YÖNTEMLERİ | 9 |
| 2.4.1.1 Difüzyon yöntemleri | 9 |
| 2.4.1.1.1 Antimikrobiyal gradyan yöntemi | 9 |
| 2.4.1.1.2. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi..... | 9 |
| 2.4.2 OTOMATİZE TANIMLAMA YÖNTEMLERİ | 10 |
| 2.4.2.1. Phoenix™ (Becton Dickinson Diagnostic Systems, Sparks, MD, ABD) | 10 |
| 2.4.2.2. VITEK® 2 (bioMerieux, Marcy-L'Etoile, Fransa) | 10 |
| 2.4.2.3. Sensititre™ Aris™ 2x (Trek Diagnostic Systems) | 11 |
| 2.4.2.4. MALDI-TOF MS | 11 |
| 2.5. POZİTİF KAN KÜLTÜRÜ ŞİŞELERİNDEN DOĞRUDAN HIZLI ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTİ YÖNTEMİ | 11 |
| 2.5.1. Kan kültürü şişelerinin hazırlanması | 12 |
| 2.5.2. Agar plakalarının doğrudan kan kültürü şişelerinden inokülasyonu | 12 |
| 2.5.3. İnkübasyon ve plakaların okunması | 12 |
| 2.5.4. İnkübasyondan sonra plakaların incelenmesi | 13 |
| 2.5.6. HADT için kalite kontrol | 14 |
| 2.7. İDENTİFİKASYONDA KULLANILAN TEMEL TESTLER | 17 |
| 2.7.1. Gram boyaması | 17 |
| 2.7.2. Oksidaz testi | 17 |
| 2.7.3. Katalaz testi | 17 |
| 2.8. ÜÇÜNCÜ KUŞAK SEFALOSPORİNLER VE DİRENÇ MEKANİZMALARI . | 18 |
| 2.8.1. Üçüncü kuşak sefalosporinler | 18 |
| 2.8.2. Genişlemiş Spektrumlu β-Laktamazlar | 18 |
| 2.8.3. AmpC β-laktamazlar | 19 |

| | |
|---|----|
| 2.9. KARBAPENEMLER VE DİRENÇ MEKANİZMALARI | 20 |
| 2.10. SEFTAZİDİM-AVİBAKTAM | 21 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER | 22 |
| 3.1. ÇALIŞMA POPULASYONU | 22 |
| 3.2. ÇALIŞMA PROTOKOLÜ | 22 |
| 4. BULGULAR | 24 |
| 5. İRDELEME | 35 |
| 6. SONUÇ | 45 |
| 7. KAYNAKLAR | 47 |



ŞEKİL DİZİLİMİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1. Kan dolaşım infeksiyonunda olası etkenler | 8 |
| Şekil 2. Pozitif kan kültürü identifikasyon algoritması..... | 14 |
| Şekil 3. EUCAST HADT sınır değer tablosu kullanımı | 15 |
| Şekil 4. <i>E. coli</i> ve <i>P. aeruginosa</i> 'ya ait 4. 6. ve 8. saatteki inhibisyon sınırları..... | 16 |

TABLO DİZİLİMİ

| | |
|--|----|
| Tablo 1. Antimikrobiyal duyarlılık test plakaları için inkübasyon koşulları..... | 13 |
| Tablo 2. Oksidaz negatif çomaklar için yeniden düzenlenen sınır değerleri..... | 24 |
| Tablo 3. Oksidaz pozitif çomaklar için yeniden düzenlenen sınır değerleri | 24 |
| Tablo 4. Etkenlerin servislere göre dağılımı | 25 |
| Tablo 5. Katalaz testinin 4. 6 ve 8. saatteki sonuçları | 25 |
| Tablo 6. Diğer Gram-negatif çomakların oksidaz/katalaz testi sonuçları | 26 |
| Tablo 7. Diğer etkenlerin 4. 6. ve 8. saatlerdeki yeniden düzenlenmiş sınır değere göre yorumlanması | 26 |
| Tablo 8. <i>P. aeruginosa</i> 4. 6. ve 8. saate göre oksidaz test sonuçları | 27 |
| Tablo 9. Yeniden düzenlenmiş sınır değerlere göre <i>E. coli</i> HADT performansı | 28 |
| Tablo 10. EUCAST HADT sınır değerlere göre <i>E. coli</i> HADT performansı | 28 |
| Tablo 11. Yeniden düzenlenmiş sınır değerlere göre <i>K. pneumoniae</i> HADT performansı | 29 |
| Tablo 12. EUCAST HADT sınır değerlere göre <i>K. pneumoniae</i> HADT performansı | 29 |
| Tablo 13. Yeniden düzenlenmiş sınır değere göre <i>E. coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> dışındaki oksidaz negatif çomakların HADT performansı | 31 |
| Tablo 14. Yeniden düzenlenmiş sınır değerlere göre oksidaz negatif çomakların HADT performansı..... | 32 |
| Tablo 15. EUCAST HADT sınır değerlere göre oksidaz negatif çomakların HADT performansı..... | 32 |
| Tablo 16. Oksidaz negatif çomakların 4. 6. ve 8 saate göre Du veya Di olarak yorumlanabilenlerin oranı | 33 |
| Tablo 17. <i>P. aeruginosa</i> HADT performansı | 34 |

KISALTMALAR

ADT - Antimikrobiyal duyarlılık testi

ATCC- American Type Culture Collection

BH - Büyük hata

BOS - Beyin omurilik sıvısı

CFU - Colony forming unit

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

ÇBH - Çok büyük hata

ÇİD - Çok ilaca dirençli

Di - Dirençli

Du - Duyarlı

EUCAST - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FDA - Food and Drug Administration

GSBL - Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz

HADT - Hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi

ISO - International Organization for Standardization

KDİ - Kan dolaşım infeksiyonu

KDK – Karbapeneme dirençli *Klebsiella*

KH - Küçük hata

KK - Kalite kontrol

KU - Kategorik uyum

KPC - *K. pneumoniae* tipi karbapenemaz

MALDI-TOF MS - Matriksle desteklenmiş lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometrisi

MBL - Metallo- β -laktamaz

MHA - Mueller-Hinton Agar

MH-F - Mueller-Hinton Fastidious

MİK - Minimum inhibitör konsantrasyon

O - Orta duyarlı

OMP - Outer membrane protein

PBP - Penisilin bağlayıcı protein

TBA - Teknik belirsizlik alanı



ÖZET

Giriş ve amaç: Sepsis ve kan dolaşım infeksiyonları, dünya genelinde yüksek morbidite ve mortalite oranlarıyla önemli bir sağlık sorunu olup, hızlı tanı ve tedavi hayati önem taşımaktadır. Geleneksel mikrobiyolojik tanı ve antimikrobiyal duyarlılık testleri, pozitif kan kültüründen sonra 24-48 saat gibi uzun süreler gerektirmekte, bu durum özellikle çok dirençli patojenlerle infekte septik hastalarda tedavi gecikmelerine ve artmış mortaliteye yol açabilmektedir. Matriksle desteklenmiş lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometrisi gibi hızlı yöntemler ve otomatize sistemlerden doğrudan duyarlılık testleri mevcut olsa da, bu teknolojilere sahip olmayan laboratuvarlar için hızlı ve güvenilir alternatiflere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında gelişmiş otomatik sistemler kullanmadan, pozitif kan kültürlerinden Gram-negatif çomaklarda Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) tarafından önerilen hızlı antimikrobiyal duyarlılık testinin (HADT) uygulanabilirliğinin değerlendirilmesi ve erken dönemde oksidaz testinin pozitif ve negatif ayırımı yapıp yapılamayacağı, seftazidim [10 µg] ile üçüncü kuşak sefalosporin duyarlılığı, meropenem [10 µg] diskiyle karbapenem duyarlılığı ve karbapenem dirençli *Klebsiella* (KDK) infeksiyonlarında kullanılan seftazidim-avibaktam [10-4 µg] duyarlılığının erken tespitinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve yöntem: Bu tek merkezli prospektif tez çalışmasında, Haziran 2024-Mart 2025 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nde, kan kültürü cihazında pozitif sinyal veren ve Gram boyamasında Gram-negatif çomak görülen kan kültürü örnekleri incelendi. Pozitif kan kültürü şişelerinden alınan 125±25 µl seyreltilmemiş kan, Mueller-Hinton Agar (MHA) plağına 3 yönlü yayıldı. EUCAST önerileri doğrultusunda seftazidim (10 µg), meropenem (10 µg) ve seftazidim-avibaktam (10-4 µg) diskleri yerleştirilerek 35±1°C'de inkübe edildi. İnhibisyon zon çapları ile MHA üzerinden yapılan oksidaz ve katalaz test sonuçları 4, 6 ve 8. saatlerde manuel olarak kaydedildi. HADT sonuçları, oksidaz testi sonucuna göre (*E. coli* ve *K. pneumoniae* için en büyük değere, *P. aeruginosa* için kendi sınır değerlerine göre) yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosu kullanılarak yorumlandı. Eşzamanlı olarak, standart identifikasyon (manuel biyokimyasal testler veya Phoenix otomatize sistemi) ve antimikrobiyal duyarlılık testleri araştırmacıdan bağımsız olarak uygulandı. HADT sonuçlarının performansı, standart yöntemlerle karşılaştırılarak kategorik uyum (KU), çok büyük hata (ÇBH), büyük hata (BH) ve küçük hata (KH) oranları hesaplandı ve ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) kriterlerine göre değerlendirildi.

Bulgular: Tüm oksidaz negatif izolatların (n=65) 4. saatte %78'i, 6. ve 8. saatlerde \geq %95 yorumlanabildi. Genel KU tüm okuma saatlerinde \geq %95 saptandı; teknik belirsizlik alanı (TBA) oranları ise 4. saatteki %3,8'den, 6. saatte %2,1'e ve 8. saatte %1'e geriledi; 4. 6. ve 8. saatlerde toplam hata oranı sırasıyla %2,6, %2,9 ve %3,2 hesaplandı. *E. coli* (n=27) için 4. 6. ve 8. saatlerde toplam KU sırasıyla \geq %97 olarak bulundu; meropenemde 8. saatteki okumada bir BH saptandı; bunun dışında her üç antimikrobiyal ajan için BH ve ÇBH saptanmadı; yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosu ile HADT tablosu arasında fark saptanmadı. *K. pneumoniae* (n=26) izolatlarında 4. 6. ve 8. saatlerdeki toplam KU \geq %95 saptandı; ÇBH saptanmadı; yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosu ile HADT tablosunda farklı olarak sadece 4. saatte meropenemdeki okuma dışında fark saptanmadı. *P. aeruginosa* (n=10) izolatları için 6. ve 8. saatlerde meropenem için KU %100 olarak saptandı, herhangi bir hata saptanmadı. Seftazidim için 6. ve 8. saatlerdeki KU sırasıyla %57 ve %63; seftazidim-avibaktam için 6. ve 8. saatlerdeki KU sırasıyla %75 ve %75 saptandı ve her iki antimikrobiyal ajanda yüksek BH oranları (%25-43) gözlemlendi.

Sonuç: Bu çalışma, oksidaz gibi hızlı ve basit tanımlama testleri ile yeniden düzenlenmiş sınır değer tabloları kullanılarak, gelişmiş otomatize sistemlere sahip olmayan laboratuvarlarda bile HADT yönteminin oksidaz negatif Gram-negatif çomaklarda üçüncü kuşak sefalosporin ve karbapenem direncini 4–8 saatlik inkübasyon sonrası güvenilir bir şekilde saptanabildiğini gösterdi. Bu yüksek performans, *P. aeruginosa* için meropenemde de devam ederken, seftazidim ve seftazidim-avibaktamda kabul edilebilir ölçütlerin altında kaldı. Tüm veriler göz önüne alındığında tür düzeyinde tanımlama yapmadan da yüksek oranda antibiyotik direncini öngörebilmesi nedeniyle HADT sonuçlarının tedavi yönetiminde ve izolasyon önlemlerinin uygulanmasında kullanılabileceği aşıkardir.

Anahtar kelimeler: EUCAST, HADT, Gram-negatif bakteriyemi, kan dolaşım infeksiyonu, hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi

ABSTRACT

Objectives: Sepsis and bloodstream infections are a major health problem worldwide, with high morbidity and mortality rates, and rapid diagnosis and treatment are of critical importance. Traditional microbiological diagnostic methods and antimicrobial susceptibility testing require lengthy periods of 24–48 hours after a positive blood culture, which can lead to treatment delays and increased mortality, particularly in septic patients infected with highly resistant pathogens. Although rapid methods such as matrix-enhanced laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry and automated systems for direct susceptibility testing are available, there is a need for fast and reliable alternatives for laboratories without access to these technologies. In this study, the feasibility of applying the rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) recommended by the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) for Gram-negative rods from positive blood cultures was evaluated in clinical microbiology laboratories without the use of advanced automated systems. Additionally, the study aimed to determine whether the oxidase test could distinguish between positive and negative results in the early stages, the susceptibility of third-generation cephalosporins to ceftazidime [10 µg], carbapenem susceptibility using a meropenem [10 µg] disk, and the early detection of ceftazidime-avibactam [10-4 µg] susceptibility in carbapenem-resistant *Klebsiella* (KDK) infections.

Materials and methods: In this single-center prospective thesis study, blood culture samples that yielded a positive signal on the blood culture device and showed Gram-negative rods on Gram staining were examined at Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine between June 2024 and March 2025. Undiluted blood samples (125 ± 25 µl) were obtained from positive blood culture bottles and spread in three directions onto Mueller-Hinton Agar (MHA) plates. Following EUCAST recommendations, disks containing ceftazidime (10 µg), meropenem (10 µg), and ceftazidime-avibactam (10-4 µg) were placed and incubated at $35\pm 1^\circ\text{C}$. Inhibition zone diameters and results of oxidase and catalase tests performed on MHA were manually recorded at 4, 6, and 8 hours. RAST results were interpreted using a revised cutoff value table based on the oxidase test result (for *E. coli* and *K. pneumoniae* according to the highest value, and for *P. aeruginosa* according to its own cutoff values). Concurrently, standard identification (manual biochemical tests or Phoenix automated system) and antimicrobial susceptibility tests were performed independently by the researcher. The performance of RAST results was compared with standard methods, and categorical agreement (CA), very major error (VME),

major error (ME), and minor error (mE) rates were calculated and evaluated according to U.S. Food and Drug Administration (FDA) criteria.

Results: All oxidase-negative isolates (n=65) were interpretable at 4 hours (78%), and $\geq 95\%$ at 6 and 8 hours. Overall CA was $\geq 95\%$ at all reading times; area of technical uncertainty (ATU) rates decreased from 3.8% at 4 hours to 2.1% at 6 hours and 1% at 8 hours; the total error rate at 4, 6, and 8 hours was 2.6%, 2.9%, and 3.2%, respectively. For *E. coli* (n=27), the total CA was $\geq 97\%$ at the 4th, 6th, and 8th hours; one ME was detected for meropenem at the 8th-hour reading; apart from this, no other ME or VME were detected for the three antimicrobial agents; no difference was observed between the revised cutoff value table and the RAST table. For *K. pneumoniae* (n=26) isolates, total CA was $\geq 95\%$ at 4, 6, and 8 hours; no VME was detected; no differences were observed between the revised cutoff value table and the RAST table except for the reading at 4 hours for meropenem. For *P. aeruginosa* (n=10) isolates, CA was 100% for meropenem at 6 and 8 hours, with no errors detected. For ceftazidime, CA was 57% and 63% at 6 and 8 hours, respectively; for ceftazidime-avibactam, CA was 75% and 75% at 6 and 8 hours, respectively, and high ME rates (25–43%) were observed for both antimicrobial agents.

Conclusion: This study demonstrated that the RAST method can reliably detect third-generation cephalosporin and carbapenem resistance in oxidase-negative Gram-negative rods after 4–8 hours of incubation, even in laboratories without advanced automated systems, using revised cutoff tables based on rapid and simple identification tests such as oxidase. This high performance persists for *P. aeruginosa* with meropenem, while it falls below acceptable criteria for ceftazidime and ceftazidime-avibactam. Considering all the data, it is clear that RAST results can be used in treatment management and the implementation of isolation measures, as they can predict high levels of antibiotic resistance without the need for species-level identification.

Keywords: EUCAST, RAST, Gram-negative bacteremia, bloodstream infection, rapid antimicrobial susceptibility testing

1. GİRİŞ

Sepsis, düşük ve orta gelirli ülkelerde ve dünya çapında başta gelen mortalite nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir (1). Kan dolaşım infeksiyonları (KDİ) hastanede yatan hastalarda morbidite ve mortalitenin önemli bir nedeni olarak kabul edildiğinden, sepsisin hızlı tanısı ve tedavisi büyük bir öneme sahiptir (2). KDİ insidansının yılda 100.000 kişide 113-204 arasında olduğu tahmin edilmektedir (3). Günlük klinik mikrobiyolojide kullanılan identifikasyon ve antimikrobiyal duyarlılık testleri otomatize sistemlerle veya manuel biyokimyasal tanımlara dayanılarak yapılmaktadır. Bu yöntemler pozitif kan kültürü saptandıktan sonra sonuç vermesi için en az 24-48 saat geçmesi gerekmektedir.

Septik hastalar için uygun olmayan tedavi ve tedavide her bir saatlik gecikme, hastalardaki sağ kalımı doğrudan etkilemektedir (4). Bu nedenle pozitif kan kültürlerinin daha hızlı tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinin daha hızlı sonuçlanması, KDİ olan hastaların uygun bir şekilde tedavi edilmesi klinisyenler için büyük bir öneme sahiptir (5). Matriksle desteklenmiş lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometrisiyle (MALDI-TOF MS) tanımlama, alt kültürün oluşmasından 3-4 saat sonra elde edilebilir (6). Aynı şekilde VITEK 2 gibi otomatize sistemlerde de pozitif kan kültürü şişesinden doğrudan antimikrobiyal duyarlılık testi yapılabilmektedir (7). Fakat bu gelişmiş sistemlere sahip olmayan laboratuvarlarda bu durum tedavide gecikmelere neden olmakta ve özellikle çoklu dirençli patojenlerle infekte olan septik hastalar için mortal seyredebilmektedir (8).

İlk kez 2018 yılında Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) sepsis tedavisinde kilit role sahip geniş spektrumlu antimikrobiyaller için pozitif kan kültüründen doğrudan uygulanabilen hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi (HADT) uygulamasını önermiştir. Bu yöntemle pozitif kan kültürlerinden doğrudan *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* (*Klebsiella variicola* ve *Klebsiella quasipneumoniae* dahil), *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* ve *Streptococcus pneumoniae* için uygulanabilir (9).

Bu çalışmada klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında gelişmiş otomatik sistemler kullanmadan Gram-negatif çomaklarda HADT'nin uygulanabilirliğini, erken dönemde oksidaz testinin pozitif ve negatif ayırımı yapıp yapılamayacağı, seftazidim [10 µg] ile üçüncü kuşak sefalosporin duyarlılığı, meropenem [10 µg] diskiyle karbapenem duyarlılığı ve karbapeneme

dirençli *Klebsiella* (KDK) infeksiyonlarında kullanılan seftazidim-avibaktam [10-4 µg] duyarlılığının erken tespitini belirlemeyi amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis

Sepsis sendromu, enfeksiyona karşı düzensiz bir yanıtı neden olan ve bunun sonucunda mortaliteyle veya morbiditeyle sonuçlanan önemli bir sağlık sorunudur. Dünya genelinde yılda yaklaşık 48,9 milyon sepsis olgusu ve buna bağlı 11 milyon ölüm meydana gelmektedir. Sepsis kelimesi Yunanca çürümek kelimesinden türetilmiştir. İlk kez 1992 yılında enfeksiyona karşı aşırı inflamatuvar reaksiyon olarak tanımlanmış ve bu tanım daha sonra değişmiştir. Sepsiste tanımlanmış olan en sık enfeksiyon bölgeleri akciğer, abdominal, genitoüriner, kan dolaşımı ve deri-yumuşak doku kaynaklı enfeksiyonlardır. En sık patojenler Gram-pozitif ve Gram-negatif mikroorganizmalardır. Bu etkenlere yönelik uygun ampirik antimikrobiyal tedavi hızlı bir şekilde başlanmalıdır çünkü tedavideki gecikmelerin mortaliteyle doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir. Patojen tespitine yönelik bilgiler elde edildikçe olası etkene yönelik tedavi de daraltılmalıdır (10).

2.2. Kan kültürü

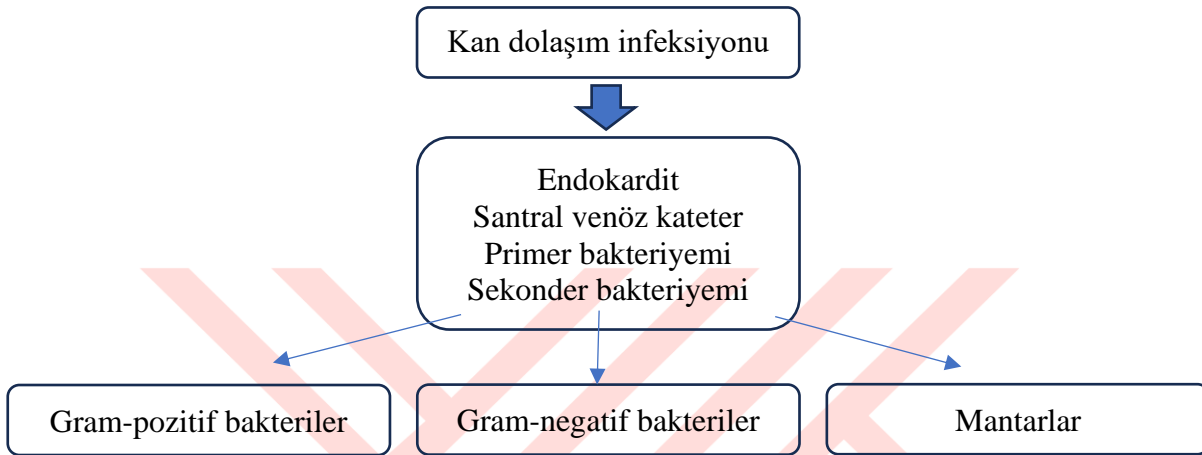
Bakteriyemi ve sepsis tanısında, kan kültürü en önemli laboratuvar testlerinden biridir (11). Patojen mikroorganizmaların kan kültüründen elde edilmesi, enfeksiyonun uygun klinik yönetimi için esastır. Otomatik kan kültürü sistemleri, kan kültüründe kullanılan en hassas yöntemdir ve şu anda yaygın olarak kullanılmaktadır (12). BACTEC FX (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, ABD) otomatik kan kültürü sistemi yaygın olarak kullanılan sistemlerden biridir. FX sistemi mikroorganizmaların büyümesini CO₂ için bir floresan sensörle algılar ve pozitif sinyal verir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında genellikle 5 günlük bir inkübasyon protokolü kullanılmaktadır (13).

2.3. Kan dolaşım enfeksiyonu

Avrupa'da her yıl yaklaşık 1.200.000 KDI olgusu ve uzun dönem morbiditeleri nedeniyle giderek artan bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (14). Uygun ve zamanında alınmış kan kültürleri, olası patojenin saptanması ve antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesi için önemini korumaktadır (15). KDI, kaynağı belirsiz bir odaktan primer veya pnömoni, üriner sistem enfeksiyonu gibi bir odaktan sekonder gelişebilir. KDI, Gram-pozitif, Gram-negatif bakteriler ve mantarlara bağlı gelişebilir (Şekil 1). İnfeksiyöz bir patojen kan damarlarına

doğrudan invazyon yoluyla, apse gibi bir infeksiyon odağını drene eden lenfatik damarlar yoluyla veya kateter gibi vasküler cihazlar yoluyla kan dolaşımına ulaşır (16).

Bakteriyemi, kan dolaşımında canlı bakterilerin varlığı olup gerçek kan kültürü pozitifliği olarak tanımlanır (17). Bakteriyemide ateş ve titremenin neden olduğu inflamatuvar bir yanıt oluşur (18). Gram-negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit nedeniyle bu bakteriyemiler, sıklıkla sepsis veya septik şokla sonuçlanır (17).



Şekil 1. Kan dolaşım infeksiyonunda olası etkenler

Bakteriyemiden farklı bir durum olan sepsis, infeksiyona karşı düzensiz konak yanıtına neden olan yaşamı tehdit eden bir durumdur. Sepsis, bilişsel bozukluk veya organ yetmezliği de dahil olmak üzere kalıcı hasara neden olabilir. 1997-2003 yılları arasında Gram-negatif bakteriyemi olguları %33'ten %43'e yükselmiştir. Çok ilaca dirençli (ÇİD) *Enterobacterales*'e bağlı bakteriyemide ise %6,3'ten %15,8'e yükselmiştir. En sık izole edilen Gram-negatif bakteriyemi etkenleri; *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* ve *A. baumannii*'dir (19).

2.4. ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTLERİ

Rutin antimikrobiyal duyarlılık testleri (ADT) için en az 24 saate gereksinim vardır. EUCAST veya Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından yayımlanmış olan sınır değerlere göre duyarlı, orta veya dirençli olarak kategorize edilir. Minimum inhibitör konsantrasyon ise (MİK), belirli bir inkübasyondan sonra bir mikroorganizmanın görünür büyümesini engelleyen en düşük ilaç konsantrasyonu olarak tanımlanır. Kirby-Bauer disk difüzyon, E-test (bioMerieux, Marcy-L'Etoile, Fransa), agar ve broth dilüsyon yöntemleri klasik olarak kullanılan manuel testlerdir ve en az 16-24 saatlik inkübasyon gerektirir.

VITEK® (bioMerieux, Marcy-L'Etoile, Fransa), Phoenix™ (Becton Dickinson Diagnostic Systems, Sparks, MD, ABD), MicroScan (Beckman Coulter, Brea, CA, ABD) gibi ticari yarı otomatik veya otomatik cihazlar ile tanımla manuel testlere göre daha kısa sürede olmaktadır. Fakat maliyetin fazla olması ve özel teknik gerektirmesi gibi nedenlerle her laboratuvarında kullanılamamaktadır (20).

2.4.1 KLASİK ADT YÖNTEMLERİ

2.4.1.1 Difüzyon yöntemleri

2.4.1.1.1 Antimikrobiyal gradyan yöntemi

Antimikrobiyal gradyan şerit yöntemi, seyreltme ve difüzyon yöntemlerinin prensiplerine dayanan bir testtir. En bilinen ticari kitlerden biri olan E-test (bioMerieux, Marcy-L'Etoile, Fransa) rutin olarak kullanılır. Mueller-Hinton Agar (MHA) besiyerine mikroorganizma inoküle edildikten sonra, kuru antimikrobiyal ilaç bir ucundan diğer ucuna artan konsantrasyon gradyanı ile ince test şeridi halinde agar yüzeyine yerleştirilir. 24 saatlik inkübasyondan sonra, MİK değeri, petri kabının üstünden bakılarak okunur ve şeridin eliptik bir büyüme inhibisyon zonu bölgesiyle kesiştiği nokta belirlenerek kantitatif bir sonuç verilir. Bu yöntemin kullanımı kolay olmakla birlikte disk difüzyon yöntemine göre pahalı bir yöntemdir (20).

2.4.1.1.2. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi

Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi, antimikrobiyal duyarlılık testi için kullanılan en eski yöntemdir. Neredeyse tüm antimikrobiyal ajanlar için kullanılabilmesi, özel ekipman gerektirmemesi, kolaylıkla tekrarlanabilmesi gibi nedenlerle en yaygın kullanılan yöntemlerden biri olmaya devam etmektedir. EUCAST tarafından disk difüzyon yöntemi Aralık 2009 yılında ilk versiyonu yayımlanmış ve her yıl güncellenmektedir. MHA üreticinin talimatlarına göre hazırlanır ve takviyeler 42-45°C'ye soğutulduktan sonra eklenir. Agar, maksimum 0,5 mm'lik bir varyasyonla 4,0 mm'lik eşit bir derinlik elde etmek için Petri kaplarına dağıtılır. Süspansiyon, steril bir eküvyon yardımıyla seçici olmayan bir besiyerinden 16-24 saatlik inkübasyondan sonra morfolojik olarak benzer birkaç kolonin seçilmesi ve steril serum fizyolojik içinde 0,5 McFarland standardının yoğunluğuna kadar süspansiyon edilmesiyile hazırlanır. Süspansiyonun yoğunluğu tercihen üreticinin talimatlarına göre bir McFarland standardıyla kalibre edilmiş bir fotometrik cihazla ölçülür.

Alternatif olarak, süspansiyonun yoğunluğu 0,5 McFarland bulanıklık standardıyla görsel olarak karşılaştırılabilir. Tüm inokulum süspansiyonları optimum olarak 15 dakika içinde ve her zaman hazırlandıktan sonra 60 dakika içinde kullanılmalıdır. Steril bir eküvyon, inokulum süspansiyonuna daldırılır ve inokulum, üç yöne sürülerek veya otomatik bir plaka döndürücü kullanılarak agar plakasının tüm yüzeyine eşit olarak yayılır. Diskler, plakaların inokülasyonundan sonraki 15 dakika içinde agar yüzeyine sıkıca uygulanır. Bir plakadaki maksimum disk sayısı plakanın boyutuna, organizmaya ve test edilen antimikrobiyal ajanlara bağlıdır. En fazla altı disk 90 mm'lik dairesel bir plakaya ve 12 disk 150 mm'lik dairesel bir plakaya yerleştirilebilir. Antimikrobiyal disklerin uygulanmasından sonraki 15 dakika içinde plakalar ters çevrilir ve EUCAST web sitesindeki disk difüzyon testi kılavuzuna göre 16-20 saat boyunca $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilir. İnkübasyondan sonra, inhibisyon bölgeleri, plaka gözden yaklaşık 30 cm uzakta tutulduğunda çıplak gözle belirgin bir büyümenin tespit edilmediği noktada okunur. İnhibisyon bölgesi çapları bir cetvel, kumpas veya otomatik bir bölge okuyucu ile en yakın milimetreye kadar ölçülür. MHA plakaların arkasından koyu bir arka plana karşı yansıyan ışıkla okunur. Zon çapları yorumlanır ve EUCAST klinik sınır değer noktası tablolarına göre duyarlı, orta veya dirençli olarak kategorize edilir (21).

2.4.2 OTOMATİZE TANIMLAMA YÖNTEMLERİ

2.4.2.1. Phoenix™ (Becton Dickinson Diagnostic Systems, Sparks, MD, ABD)

Antibiyotik ikiye katlama dilüsyonlarına ayrılmış 84 kuyu içeren ve manuel olarak eklenen 99 test panelini işleme kapasitesine sahip büyük bir inkübatör okuyucuya sahiptir. Phoenix hem kolorimetrik (oksidasyon/redüksiyon indikatörü) hem de türbidometrik büyüme tespiti kullanarak her 20 dakikada bir her paneli izler. Gram-negatif, Gram-pozitif, *S. pneumoniae*, β -hemolitik ve viridans grubu streptokoklar için test panelleri mevcuttur. 6-16 saat içinde minimum inhibitör konsantrasyonları sonuçlanır.

2.4.2.2. VITEK® 2 (bioMérieux, Marcy-L'Etoile, Fransa)

64 kuyucuklu bir formatta (mikrolitre miktarında) kredi kartı boyutunda reaktif plastik kartlar kullanılır. Kısaltılmış bir inkübasyon süresi boyunca bakteriyel büyümenin tekrarlayan türbidimetrik izlenmesini kullanır. Eşzamanlı olarak 30 ile 240 testi barındıracak şekilde yapılandırılabilir. Hızlı büyüyen Gram-pozitif ve Gram-negatif aerobik bakterilerin ve *S. pneumoniae*'nin 4-10 saatlik bir süre içinde test edilmesini sağlar. VITEK® 1 ise 45 kuyucuklu bir kart ile daha sınırlıdır ve *S. pneumoniae*'yi içermez.

2.4.2.3. Sensititre™ Aris™ 2x (Trek Diagnostic Systems)

64 panel kapasitelidir. Standart 96 kuyulu mikrodilüsyon plakalarını içerir. Büyüme, 18-24 saatlik inkübasyondan sonra floresan ölçümü ile belirlenir. Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterileri, *S. pneumoniae*, *Haemophilus* türleri ve non-fermentatif Gram-negatif çomakları tanımlayabilir (22).

2.4.2.4. MALDI-TOF MS

MALDI-TOF MS, geçmişte proteinleri karakterize etmek amacıyla araştırmalarda kullanılmış daha sonra mikroorganizma tanımlanması için de kullanılabileceği keşfedildikten sonra klinik mikrobiyoloji laboratuvarları tarafından kullanılmaya başlanmıştır. Şu an en yaygın kullanılan iki cihaz bioMérieux (VITEK® MS veya VITEK® MS PRIME) ve Bruker (Biotyper® ve Sirius) tarafından üretilmektedir. Bu cihazlar, organizmaların protein profillerini analiz ederek organizmaların hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanmasını sağlar (23).

2.5. POZITIF KAN KÜLTÜRÜ ŞİŞELERİNDEN DOĞRUDAN HIZLI ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTİ YÖNTEMİ

Disk difüzyon yöntemiyle yapılan geleneksel ADT'nin sonuçlanması kan kültürü pozitif sinyal vermesinden sonra 24-48 saat içinde gerçekleşmektedir. Doğrudan kan kültürü şişelerinden ADT çalışması ilk kez 1984 yılında denenmiştir (24). Günümüzde ise CLSI Yöntem Geliştirme ve Standardizasyon Çalışma Grubu'ndan Chandrasekaran ve ark. tarafından yapılan çalışmada 18 saatlik inkübasyon sonrası kategorik uyum (KU) yüksek (%94,7 ile 96,2 arasında değişmekte) sonuçlar elde edilmiş fakat erken okuma için düşük KU (%58,9), yüksek çok büyük hata (ÇBH) (%2,2) ve büyük hata (BH) (%25,4) saptanmıştır (25). Weme ve ark. tarafından da sadece 3-4 saatlik sonra okumayla gerçekleştirilen HADT yöntemi değerlendirmiş fakat 3 saatlik okumanın zon çaplarını değerlendirmede yetersiz olduğu ve okunabilir zonların oluşması en erken 4 saatlik inkübasyon gerektiğini gözlenmiş (26). Bu iki çalışmada EUCAST'in standart duyarlılık noktaları kullanılmış.

Kahlmeter ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise 4, 6 ve 8 saatlik inkübasyon süresinin yeterli olabileceği fakat EUCAST'in standart duyarlılık noktalarından farklı özel duyarlılık noktaları kullanılmasını önermişlerdir (27). Bu çalışmaların değerlendirilmesi sonucu 2018 yılında EUCAST HADT yöntemi ve 4, 6 ve 8 saatlik inkübasyon sonrası için duyarlılık sınırlarını yayımladı. Bu kılavuzda standart sınır değerlerinden farklı olarak özel duyarlılık sınırları ve tür düzeyinde tanımlanmanın gerektiği belirtildi.

EUCAST HADT yöntemi, EUCAST tarafından yayımlanan standart disk difüzyon yöntemine dayanmaktadır. Fakat bu yöntemden farklı olarak inokulum değiştirilmiş, inkübasyon süresi kısaltılmış, okuma talimatları değiştirilmiş ve HADT'e özgün yeni sınır değerler tanımlanmıştır. Bu yöntemin amacı pozitif kan kültürlerinden pasaj yapmadan doğrudan duyarlılık testi yaparak hızlı sonuç elde edilmesini sağlamaktır. HADT yöntemi, 4, 6, 8 ve 16-20 saatlik inkübasyon süreleri için okuma yöntemini sağlamaktadır.

Yöntem aşağıdaki türler için doğrulanmıştır:

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae* (*Klebsiella variicola* ve *Klebsiella quasipneumoniae* dahil)
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Staphylococcus aureus*
- *Enterococcus faecalis*
- *Enterococcus faecium*
- *Streptococcus pneumoniae*

2.5.1. Kan kültürü şişelerinin hazırlanması

EUCAST HADT yöntemi, BACTEC (Becton Dickinson), BacT/ALERT (bioMérieux) ve VersaTREK (Thermo Fisher) için kan kültürü şişeleri kullanılarak doğrulanmıştır. HADT yöntemi, kan kültürü şişelerinin pozitif sinyal vermesinden 0 - 18 saat sonra gerçekleştirilebilir. Pozitif şişeler, HADT yöntemi hazır olana kadar kan kültürü cihazından çıkartılmamalıdır. Bununla birlikte kan kültürü şişesi cihazdan çıkarıldıktan sonra, oda sıcaklığında 3 saate kadar olan gecikmeden etkilenmediği gösterilmiştir. Yöntem karışık türleri içeren kan kültürü şişelerine uygulanmamalıdır.

2.5.2. Agar plakalarının doğrudan kan kültürü şişelerinden inokülasyonu

90 mm'lik dairesel MHA / Mueller-Hinton Fastidious (MH-F) plakası üzerine pozitif sinyal vermiş olan kan kültürü şişesinden 125±25 µl seyreltilmemiş kan kültürü alınır. Üç yönde yayıldıktan sonra standart antimikrobiyal duyarlılık testinde olduğu gibi diskler uygulanır. Etkileşimi önlemek amacıyla bir plağa en fazla 4-6 disk kullanılması önerilir. Diskler uygulandıktan sonra 35±1°C'de inkübe edilir.

2.5.3. İnkübasyon ve plakaların okunması

Plakalar Tablo 1'deki gibi inkübe edilir. 4, 6 ve 8 saat için: belirtilen okuma süresinin ± 5 dakikalık zaman aralığında inhibisyon bölgeleri okunur. Sonraki zamanda okuma yapabilmek için 10 dakika içinde yeniden inkübe edilir. 8 saatten daha fazla inkübasyon gerekiyorsa 16-20 saat içinde yeniden okunabilir. Plaklar 20 saatten fazla inkübe edilmez.

Tablo 1. Antimikrobiyal duyarlılık test plakaları için inkübasyon koşulları

| Organizma | İnkübasyon süresi | Agar | İnkübasyon |
|--|--|------|--------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> | 4, 6, 8 ve 16-20 saatlik inkübasyon süresi | MHA | 35 \pm 1°C normal atmosferde |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 6, 8 ve 16-20 saatlik inkübasyon süresi | MHA | 35 \pm 1°C normal atmosferde |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 4, 6, 8 ve 16-20 saatlik inkübasyon süresi | MH-F | 35 \pm 1°C normal atmosferde |

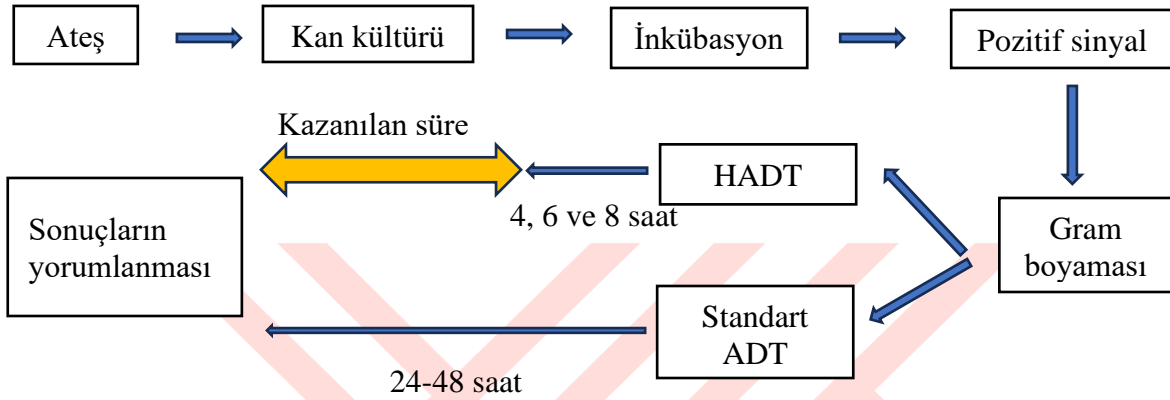
2.5.4. İnkübasyondan sonra plakaların incelenmesi

4., 6. ve 8. saatlerde MHA plakası üzerindeki üreme genellikle EUCAST standart disk difüzyon yöntemine göre daha az belirgin görünecektir. İnhibisyon bölgeleri yalnızca büyüme belirgin olduğunda ve bölge kenarları açıkça görülebildiğinde okunmalıdır. *P. aeruginosa* için 6. saatten itibaren, diğer mikroorganizmalar için 4. saatten itibaren inhibisyon çapı ölçülebilir. EUCAST HADT yöntemi sınır değer tablosunun nasıl kullanılacağı Şekil 3'te gösterilmiştir. Bu tablonun yorumlanması için tür düzeyinde identifikasyon yapılması gerekmektedir.

4, 6 ve 8 saatlik inkübasyonda inhibisyon çapı ölçümü yapılırken, plakaların kapakları çıkarılır ve yansıyan ışıkla plakalar ön yüzden okunur. Eğer 4. saatteki ölçümde belirgin bir inhibisyon zonu görülmezse bir sonraki okuma için tekrar inkübasyona bırakılır. Bazen *E. coli* ve *K. pneumoniae*'de erken okuma durumunda β -laktam antibiyotiklerde keskin inhibisyon çapı olmasına rağmen ince üremeler görülebilir, bu durumda üremeler göz ardı edilerek keskin inhibisyon zonundan okunmalıdır. Bu prosedürle standart disk difüzyon yöntemine göre en erken 4. saatte antimikrobiyal duyarlılıkla ilgili bir yorum elde edilebilmektedir (Şekil 2).

2.5.5. Teknik belirsizlik alanı

Teknik belirsizlik alanı (TBA), inhibisyon bölgesi çaplarının aralığı olarak tanımlanmıştır. TBA, duyarlılık kategorileri arasındaki ayırım net yapılamaz ve yorumlama hatalarının önemli ölçüde artmasına neden olur. TBA'nin altındaki veya üstündeki yorumlamalar güvenilir olarak raporlanabilir. TBA aralığında olan antimikrobiyal ajan için sonuç bildirilmez ve bir sonraki değerlendirme için yeniden inkübasyona bırakılır. 6, 8 ve 16-20 saatlik inkübasyon sonunda da sonuç belirlenemez ise EUCAST standart disk difüzyon yöntemi ile sonuç yorumlanır.



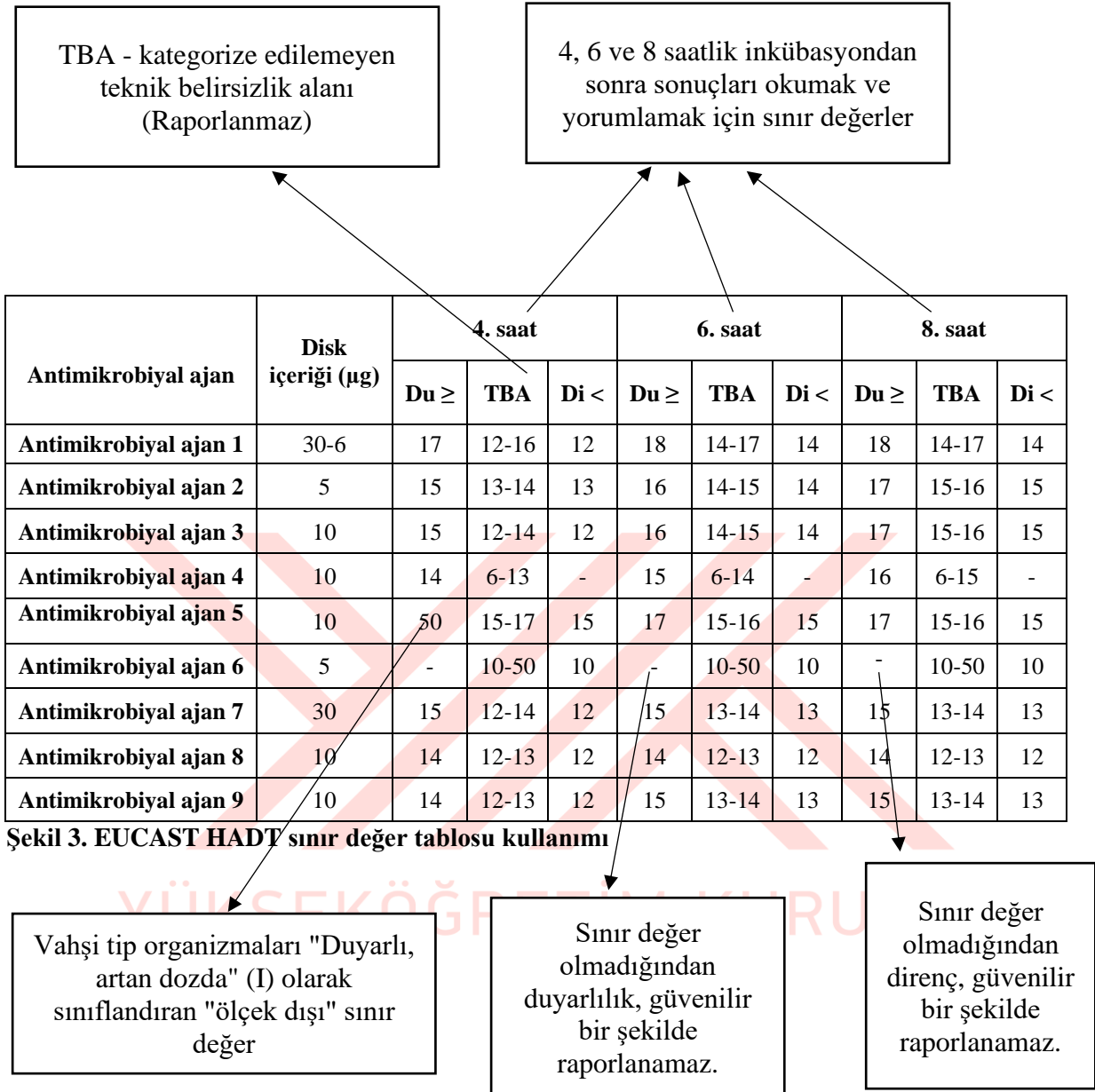
Şekil 2. Pozitif kan kültürü identifikasyon algoritması

2.5.6. HADT için kalite kontrol

EUCAST, beş kalite kontrol (KK) suşu (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *S. pneumoniae* ATCC 49619) için 4, 6, 8 ve 16-20 saat kriterleri geliştirmiştir. Prosedür rutin işleyişe konulduktan sonra personel veya materyal değişikliği olmadıkça HADT KK yapılması gerekli değildir. (*E. coli* ve *P. aeruginosa* ait 4. 6. ve 8. saatteki inhibisyon sınırları Şekil 4'te gösterilmiştir. Bu işlem için kullanılan kan kültürü şişeleri 5 günlük inkübasyon süresi sonrası üreme olmayan şişelerle yapılmıştır.)

EUCAST HADT için önerilen KK prosedürü aşağıda anlatıldığı gibi yapılmaktadır: KK suşları, kan kültürü şişelerine 100-200 CFU/mL süspansiyonundan (0,5 McFarland solüsyonu hazırlanır ve 10 µl solüsyonu üç kez 990 µl'lik bir serum fizyolojik tüpüne aktararak süspansiyonu 1:1 000 000 oranında seyreltilir. Son tüpteki 1 mL'lik hacmin tamamı alınır ve bir kan kültürü şişesine aktarılır) 1 mL inoküle edilerek ve yaklaşık 5 mL steril kan eklenir. Kan kültürüne ekildikten sonra inkübasyon için otomatize kan kültürü sistemine yerleştirilir,

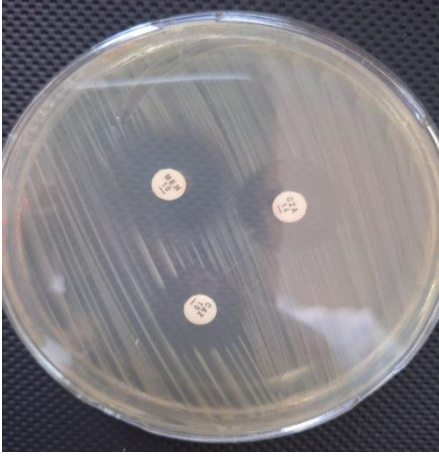
pozitif sinyal saptandıktan sonra EUCAST HADT prosedürüne göre işleme alınır (9) .



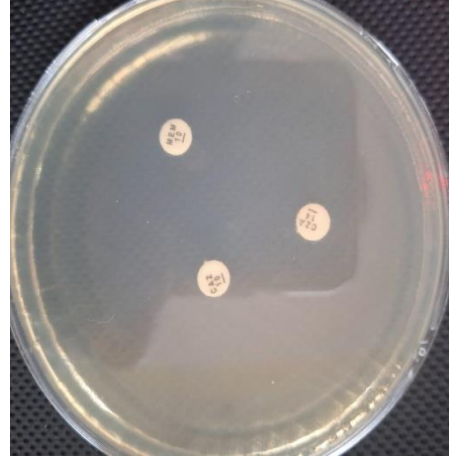
2.6. EUCAST HADT PROSEDÜRÜNDE *E. coli* ve *K. pneumoniae* İÇİN GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU B-LAKTAMAZ VE KARBAPENAMAZ TARANMASI

Genişlemiş spektrumlu β-laktamaz (GSBL) üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae*, HADT yöntemiyle sefotaksim [5 µg] ve seftazidim [10 µg] sınır değerleri kullanılarak 4, 6, 8 ve 16-20 saatlerde tespit edilebilir. Pozitif saptanması halinde doğrulama testi aşamasına geçilmelidir. Karbapenemaz üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae*, HADT yöntemiyle 6, 8 ve 16-20 saatlerde

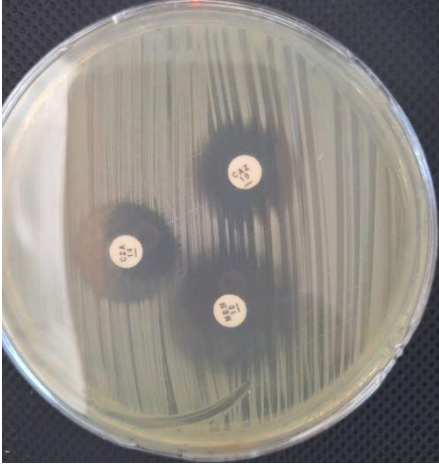
meropenem [10 µg] tarama kesme değerleri kullanılarak tespit edilebilir (GSBL'den farklı olarak 4 saatlik inkübasyonda tarama önerilmez). Pozitif saptanması halinde doğrulama testi aşamasına geçilmelidir (28).



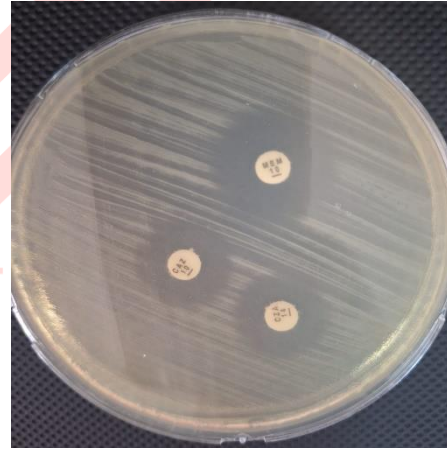
E. coli 4. saat



P. aeruginosa 4. saat

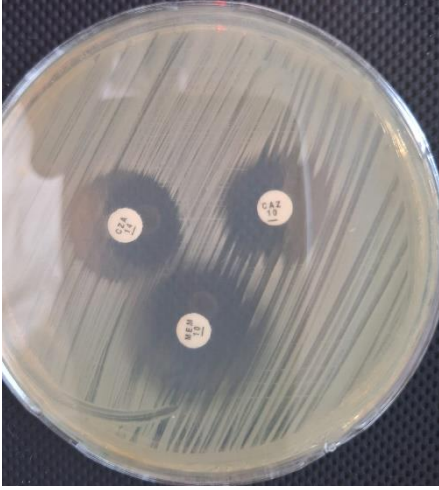


E. coli 6. saat

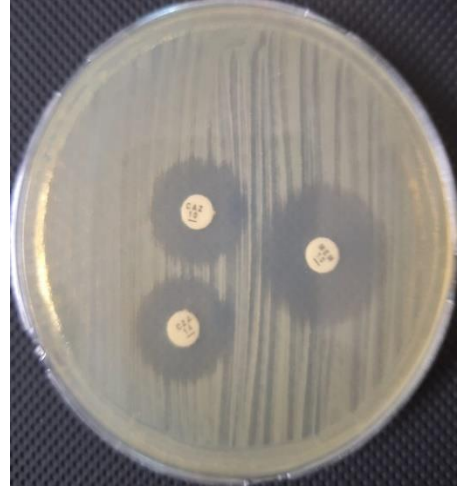


P. aeruginosa 6. saat

Şekil 4. *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya ait 4. 6. ve 8. saatteki inhibisyon sınırları



E. coli 8. saat



P. aeruginosa 8. saat

Şekil 4. *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya ait 4. 6. ve 8. saatteki inhibisyon sınırları (devamı)

2.7. İDENTİFİKASYONDA KULLANILAN TEMEL TESTLER

2.7.1. Gram boyaması

Gram boyaması hüresel morfoloji ve boyutlara dayanarak temel bakteri sınıflandırılmasında kullanılır. İnfeksiyon hastalıklarının olası tanısında kritik bir öneme sahiptir (29). Aynı zamanda pozitif kan kültürlerinin Gram boyaması, uygun tedavinin başlatılmasında veya değiştirilmesinde en önemli faktörler arasında kabul edilir (30, 31).

2.7.2. Oksidaz testi

Atmosferik oksijen varlığında, bir bakterinin hücre içi sitokrom oksidaz enzimleri fenilendiamin reaktifini oksitleyerek koyu mor bir bileşik olan indolfenol oluşturmaya oksidaz testi denir. Bu test Gram-negatif bakterilerin ilk identifikasyonunda sıklıkla kullanılır. EMB veya MAC gibi boyalı besiyerlerinde kullanılmaz. *Enterobacteriaceae* üyeleri ve *Acinetobacter* türleri oksidaz negatifken, *P. aeruginosa*, *Aeromonas*, *Neisseria*, *Morexella* spp.'de oksidaz pozitifdir (29). *P. luteola* ve *P. oryzihabitans* oksidaz negatif olmalarıyla diğer *Pseudomonas* türlerinden ayrılır (32).

2.7.3. Katalaz testi

Katalaz enzimini sentezleyen bakteriler, hidrojen peroksiti su ve oksijene hidroliz eder ve gaz kabarcıkları ortaya çıkar. Bakterilerin ilk tanımlanmasında yol göstericidir. %3'lük

solüsyon 1:10 oranında deiyonize suyla sulandırılıp hazırlanır. Stafilokokları (katalaz pozitif), streptokok ve enterokoklardan (katalaz negatif) ayırır (29).

2.8. ÜÇÜNCÜ KUŞAK SEFALOSPORİNLER VE DİRENÇ MEKANİZMALARI

2.8.1. Üçüncü kuşak sefalosporinler

Üçüncü kuşak sefalosporinler, yüksek antibakteriyel etkileriyle, geniş spektrumlarıyla, düşük istenmeyen etki ve beyin omurilik sıvısına (BOS) geçiş gibi uygun farmakokinetik özellikleri nedeniyle birçok önemli infeksiyonun tedavisinde kullanılan başlıca ilaçlardır. Başlıca kullanım alanı diğer β -laktam antibiyotiklere dirençli Gram-negatif çomaklardan kaynaklanan infeksiyonlardır.

Üçüncü kuşak sefalosporinleri inaktive eden başlıca üç enzim bulunmaktadır:

- AmpC β -laktamazlar,
- GSBL'ler
- Karbapenemazlar

Sefotaksim, seftriakson ve seftazidim, duyarlı Gram-negatif çomakların neden olduğu hastane infeksiyonlarının tedavisi için klinik kullanımda olan başlıca parenteral üçüncü kuşak sefalosporinlerdir. GSBL üreten suşlar, suş laboratuvar testlerinde duyarlı olarak değerlendirilse bile, üçüncü kuşak sefalosporinlerle tedavinin başarısız olmasına neden olduğu da gözlemlenmiştir. Böyle bir durumda karbapenemler, bu suşlar için önerilen ilaçlardır. Seftazidim, BOS'a geçmesi ve *P. aeruginosa* etkinliğiyle febril nötropenin ilk ampirik tedavisi için tek başına veya bir aminoglikozid ile kombinasyon halinde önerilen ilaçlardan biridir (33).

2.8.2. Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazlar

GSBL, *Enterobacteriaceae* ailesinden *E. coli* (en sık), *K. pneumoniae* (2. en sık), *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *Enterobacter* spp. gibi nozokomiyal patojenler tarafından üretilen hidrolize edici enzimlerdir. Geniş spektrumlu oksimino-sefalosporin (üçüncü ve dördüncü kuşak) ve monobaktamın (aztreonam) inaktivasyonuna neden olurlar ancak sefamisin (sefoksitin) veya karbapenemlerin (meropenem, imipenem, ertapenem ve doripenem) inaktivasyonuna neden olmazlar. Genellikle bu enzimler klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi β -laktamaz inhibitörleri tarafından nötralize edilir. GSBL kodlayan genler çoğunlukla transpozonlarda veya plazmidlerin ekleme dizilerinde diğer direnç genleriyle

birlikte bulunur. Sonuç olarak, hızla yayılarak aminoglikozidler, trimetoprim, sülfonamidler, tetrasiklinler kloramfenikol ve florokinolon gibi çoklu antimikrobiyalere karşı dirence neden olabilirler.

CLSI, GSBL tespiti için iki aşamalı bir süreç önermektedir. İkinci bölüm yalnızca ilk adımın pozitif sonuç vermesi halinde gerçekleştirilir. İlk adım, sefotaksim, seftriakson, seftazidim veya aztreonam gibi yaygın olarak kullanılan bazı antibiyotiklere karşı duyarlılığı tespit etmek için bir ön taramayı içerir.

İkincisi, β -laktamaz inhibitörü varlığında GSBL üreten organizmaları tanımlamak için mevcut doğrulayıcı testlerden birini içerir. GSBL taraması için CLSI tarafından önerilen testler arasında Kirby-Bauer diskleri ve VITEK® bulunmaktadır (duyarlılık %92-93) (34). Üçüncü kuşak sefalosporin direnç oranı GSBL üreten organizmaların oranı olarak kabul edilebilir çünkü üçüncü kuşak sefalosporine dirençli bakterilerin büyük çoğunluğu (%91,1) GSBL üretmiştir (35).

2.8.3. AmpC β -laktamazlar

AmpC β -laktamazlar, Ambler sınıflandırmasına göre C sınıfı enzimlerdir ve aktif bölgelerinde serin kalıntıları içerirler (36). AmpC β -laktamaz direnç mekanizmaları 3 farklı şekilde oluşabilir:

- Kromozomal olarak kodlanmış ampC genleri yoluyla indüklenebilir direnç (örneğin, *E. cloacae*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *P. aeruginosa* vb.),
- Promotör ve/veya attenüatör mutasyonlarına bağlı olarak indüklenemeyen kromozomal direnç (örn. *E. coli*, *Shigella* türleri, *A. baumannii*),
- Plazmid aracılı direnç (örneğin, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Salmonella* türleri, vb.) (37).

Seftazidim, seftriakson gibi üçüncü kuşak sefalosporinlerin kullanımı, başlangıçta duyarlı bir suş olsa bile AmpC üretimine ve β -laktam direncine neden olabilir. AmpC üretimini indükleme riski kullanılan β -laktamlara ve patojene göre değişmektedir ve bu da tedavi kararını etkileyebilmektedir (38).

2.9. KARBAPENEMLER VE DİRENÇ MEKANİZMALARI

Ertapenem, doripenem, meropenem, imipenem, klinik kullanımda olan karbapenemlerdir. Karbapenemler, bakteriyel dış zardan etkili penetrasyonları, çoklu penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP'ler) yüksek afiniteleri ve A sınıfı GSBL'ler ve C sınıfı β -laktamazlar (AmpC'ler) dahil olmak üzere çoğu β -laktamazlara karşı stabiliteyi nedeniyle geniş bir Gram-pozitif ve Gram-negatif aerobik ve anaerobik etkinliğe sahiptirler, bu nedenle bakteriyemi, hastane kaynaklı pnömoni, intraabdominal infeksiyonlar, komplike idrar yolu infeksiyonları, kemik ve yumuşak doku infeksiyonları ve obstetrik ve jinekolojik infeksiyonlar dahil olmak üzere çok çeşitli infeksiyonların tedavisinde kullanılır. Karbapenemler yüksek moleküler ağırlıklı PBP'lerin çoğuna bağlanarak hücre duvarı sentezini inhibe eder. Periplazmik boşluğa ulaşmak için spesifik dış membran proteinleri (OMP'ler) aracılığıyla Gram-negatif bakterilerin dış membranını geçerler. En önemli OMP *P. aeruginosa*'daki OprD'dir.

Karbapenemlere karşı dirence aşağıdaki mekanizmalardan biri veya bir kombinasyonu aracılık eder:

- Karbapenemleri hidrolize eden β -laktamaz üretimi,
- Belirli OMP'lerin bozulmuş ekspresyonu nedeniyle geçirgenliğin azalması;
- İlacın dış membrandan dışarı atılımı
- Gram-pozitif bakterilerde PBP'nin değişimi veya afinitesinin azalmasıdır.

Karbapenemler, çinko bağımlı metaloenzimler olan Ambler sınıf B β -laktamazlar tarafından kolayca hidrolize edilir. Buna ek olarak, Verona integron kodlu metallo- β -laktamaz ve Yeni Delhi metallo- β -laktamaz gibi edinilmiş B sınıfı β -laktamazlar, çok çeşitli Gram-negatif bakterilerde direnç sağlar. Birkaç Ambler sınıf A β -laktamaz karbapenemleri hidrolize eder. Özellikle *K. pneumoniae* tipi karbapenemazlar (KPC'ler) dünya çapında Gram-negatif bakterilerde, çoğunlukla da *K. pneumoniae*'de önemli bir karbapenem direnci belirleyicisi olarak ortaya çıkmıştır.

Karbapenemleri hidrolize eden Ambler sınıf D oksasilinaz β -laktamazlar (OXA'lar) da *A. baumannii*'de sıklıkla bulunmakta ve belirli coğrafi bölgelerde *K. pneumoniae*'de ortaya çıkmaktadır. Meropenem, bakteriyel menenjit tedavisi için FDA tarafından onaylanan tek karbapenemdir. Karbapenemler genellikle GSBL ve AmpC β -laktamaz üreten sefalosporin dirençli *Enterobacteriaceae*'ye karşı aktiftir ancak KPC β -laktamaz üretenlere karşı aktif değildir. *P. aeruginosa*'da, imipenem, meropenem ve doripenem için direnç mekanizması

farklıdır. Bu nedenle, imipenem karşı direnç her zaman meropenem veya doripenem karşı direnci göstermez ve bunun tersi de geçerlidir (39).

2.10. SEFTAZİDİM-AVİBAKTAM

Seftazidim-avibaktam, üçüncü nesil sefalosporin seftazidim ve yeni β -laktam olmayan β -laktamaz inhibitörü avibaktamın (kendisinin tek başına antimikrobiyal aktivitesi yoktur) parenteral olarak uygulanan bir kombinasyonudur. (Seftazidim: avibaktam oranı 4:1) Avibaktam, Ambler sınıf A, sınıf C ve bazı sınıf D enzimlerine karşı aktivitesi ile klasik β -laktamaz inhibitörlerinden daha geniş bir aktivite spektrumuna sahiptir. İn vitro çalışmalar, avibaktamın birçok GSBL, AmpC, KPC ve OXA-48 üreten *Enterobacteriaceae* ve ÇİD *P. aeruginosa* izolatlarına karşı üçüncü kuşak, geniş spektrumlu sefalosporin olan seftazidimin antimikrobiyal aktivitesini geri kazandırabileceğini göstermiştir. Metallo- β -laktamaz (sınıf B enzimler) üreten suşlara ve çoğu *Acinetobacter* spp. izolatlarına karşı ise aktif değildir. Komplike üriner sistem infeksiyonları, komplike batın içi infeksiyonlar (metronidazole birlikte), hastane kaynaklı pnömoni için onaylanmıştır (40).

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. ÇALIŞMA POPULASYONU

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları Laboratuvarına Haziran 2024-Mart 2025 tarihleri arasında kabul edilen kan kültürlerinden üreme sinyali olan ve Gram boyaması sonucu Gram-negatif çomakların görüldüğü tüm kan kültürü örnekleri çalışıldı.

3.2. ÇALIŞMA PROTOKOLÜ

Araştırma tek merkezli prospektif olarak planlandı. İstanbul Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında Haziran 2024-Mart 2025 tarihleri ve saat 08:00 ile 16:00 arasındaki BACTEC FX (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, ABD) kan kültürü cihazı pozitif sinyal verdikten sonra kan kültürü şişelerinden Gram boyaması yapıldı. Gram-negatif çomak olarak boyanan tüm izolatlar çalışmaya dahil edildi. Gram-negatif kokobasil boyanma özelliği gösteren ve daha sonra polimikrobiyal üreme olarak saptanan izolatlar çalışma dışı bırakıldı. Aynı hastanın aynı tarihli birden fazla kan kültürü şişesindeki üremelerden sadece biri dahil edildi. Aynı hastanın ilk Gram-negatif üreme sinyali saptandıktan 48 saat sonra gönderilen kan kültürü çalışmaya dahil edilmedi. Rutin 5 günlük inkübasyonla üreme sinyali saptanmayan şişeler üreme yok olarak değerlendirildi. 90 mm'lik MHA'ya standart ve rutin olarak uyguladığımız yöntem dışında 125±25 µl (pratik kullanım açısından insülin enjektöründen 3 damla kan kullanıldı.) seyreltilmemiş kan eküvyon çubuğuyla 3 yönlü yayıldı.

EUCAST önerileri doğrultusunda yaklaşık 15 dakika içerisinde üçüncü kuşak sefalosporin duyarlılığı için anti-pseudomonal özelliği de olan seftazidim (10 µg-Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Birleşik Krallık), karbapenem duyarlılık için karbapenemaz taramasında önerilen meropenem (10 µg-Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Birleşik Krallık) ve karbapenem dirençli *Klebsiella* (KDK) infeksiyonlarında kullanılan seftazidim-avibaktam (10-4 µg - Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Birleşik Krallık) diskleri konularak 35±1°C'de inkübasyona bırakıldı. 4, 6 ve 8. saatteki zon çapları kumpas yardımıyla manuel ölçülerek veriler bir Excel dosyasına kaydedildi. Eşzamanlı olarak 4, 6 ve 8. saatte MHA'dan identifikasyon amacıyla oksidaz ve katalaz testlerine bakıldı. Excel dosyasına oksidaz ve katalaz testleri pozitif/negatif olarak kaydedildi. Ölçümler saat 00:00'a kadar araştırmacı tarafından yapıldı.

EUCAST HADT yöntemi tür düzeyinde tanımlama gerektiğinden ve tür düzeyinde tanımlama yapılamadığı için zonlar HADT (v. 7.2 2024) kılavuzundaki *E. coli* ve *K. pneumoniae* için en büyük değere göre ve *P. aeruginosa* içinse aynı sınır değerler kullanılarak yeniden düzenlenmiş sınır tabloları yapıldı. Oksidaz negatif olanlar için yeniden düzenlenmiş sınır değerleri kullanılarak (Tablo 2), oksidaz pozitif olanlar *P. aeruginosa* için önerilen antibiyotik sınır değerleri duyarlı veya dirençli kategorisinde değerlendirildi (Tablo 3). *P. aeruginosa*'nın vahşi tipleri için EUCAST HADT'te orta duyarlı kategorisi bulunmadığı için bu kategori duyarlı olarak değerlendirildi. Sadece inhibisyon kenarları belirgin ve yaygın üremesi olanlar plakanın arkasından kapak çıkarılarak değerlendirildi. İnhibisyon kenarları belirgin olmayan izolatlar bir sonraki değerlendirme için yeniden inkübe edildi.

Standart tanımlama işlemleri araştırmacıdan bağımsız olarak enfeksiyon hastalıkları laboratuvarı personeli tarafından uygulandı. Standart tanımlama için rutin pratikte kullandığımız manuel Gram-negatif çomak identifikasyonu (triple şeker iron agar, üre agar, Simmons sitrat agar ve Motility Indole Ornithine tüp besiyeri) veya Phoenix otomatize sistemle bakteri tanımlaması yapılarak oksidaz pozitif ve oksidaz negatif kategorik uyumu karşılaştırıldı ve aynı zamanda erken karbapenem ve üçüncü kuşak sefalosporin duyarlılığı/direnci tespit edildi.

HADT sonuçları, standart yöntem kullanılarak elde edilenlerle karşılaştırıldı ve KU, ÇBH, BH ve KH şeklinde tanımlandı. ÇBH: standart yöntemle dirençli olup HADT'ta duyarlı olması, BH: Standart yöntemle duyarlı olup HADT'ta dirençli olması, KH: Standart yöntemle orta duyarlı (O) olup HADT'ta duyarlı (Du) veya dirençli (Di) olması durumu olarak tanımlandı.

KU oranları: Okunabilen zondan TBA'nın ve toplam hataların çıkarılmasıyla elde edilen sayının toplam sayıdan TBA'nın çıkarılması elde edilen sayıya bölünmüştür, (Okunabilen zon-TBA-(KH+BH+ÇBH)/Toplam sayı-TBA).

ÇBH oranları: ÇBH sayısının okunabilen zondan TBA çıkarılarak elde edilen sayıya bölünmüştür (ÇBH/Okunabilen zon-TBA).

BH oranları: BH sayısının okunabilen zondan TBA çıkarılarak elde edilen sayıya bölünmüştür (BH/Okunabilen zon-TBA).

KH oranları: KH sayısının okunabilen zondan TBA çıkarılarak elde edilen sayıya bölünmüştür (KH/Okunabilen zon - TBA).

ABD Gıda ve İlaç Dairesi'nin (FDA) kriterlerine göre yeni bir testin güvenilir olarak değerlendirilebilmesi için $KU \geq \%90$, $\text{ÇBH} \leq \%1,5$, $BH \leq \%3,0$ ve $KH < \%10$ olması gerekmektedir (41). Uluslararası Standartlar Teşkilatı ("International Organization of Standardization – ISO") tarafından belirlenen kriterlere göre kabul edilebilir performans; KU için $\geq \%90$; ÇBH ve BH için $\leq \%3$ (42). Cumitech'e göre kabul edilebilir performans KU $\geq \%90$, ÇBH ve BH oranı ayrı ayrı $\leq \%3$, KH ve BH oranı için toplam oranının $\leq \%7$ olması gerekmektedir (43). Çalışmamız FDA kriterlerine göre değerlendirildi.

Tablo 2. Oksidaz negatif çomaklar için yeniden düzenlenen sınır değerleri

| Antimikrobiyal ajan | 4. saat | | | 6. saat | | | 8. saat | | |
|--------------------------------|-----------|-------|------|-----------|-------|------|-----------|-------|------|
| | Du \geq | TBA | Di < | Du \geq | TBA | Di < | Du \geq | TBA | Di < |
| Seftazidim (10 µg) | 15 | 13-14 | 13 | 16 | 14-15 | 14 | 17 | 15-16 | 15 |
| Seftazidim-avibaktam (10-4 µg) | 12 | 10-11 | 10 | 13 | 11-12 | 11 | 13 | 11-12 | 11 |
| Meropenem (10 µg) | 17 | 15-16 | 15 | 17 | 15-16 | 15 | 17 | 15-16 | 15 |

Di: Dirençli, Du: Duyarlı, TBA: Teknik belirsizlik alanı

Tablo 3. Oksidaz pozitif çomaklar için yeniden düzenlenen sınır değerleri

| Antimikrobiyal ajan | 4. saat | | | 6. saat | | | 8. saat | | |
|--------------------------------|-----------|-----|------|-----------|-------|------|-----------|-------|------|
| | Du \geq | TBA | Di < | Du \geq | TBA | Di < | Du \geq | TBA | Di < |
| Seftazidim (10 µg) | - | - | - | 50 | 12-14 | 12 | 50 | 13-15 | 13 |
| Seftazidim-avibaktam (10-4 µg) | - | - | - | 15 | 13-14 | 13 | 16 | 14-15 | 14 |
| Meropenem (10 µg) | - | - | - | 16 | 14-15 | 14 | 16 | 14-15 | 14 |

Di: Dirençli, Du: Duyarlı, TBA: Teknik belirsizlik alanı

4. BULGULAR

Çalışmanın planlandığı Haziran 2024-Mart 2025 tarihleri arasında toplam 82 klinik

izolat verisi toplandı. 3 farklı polimikrobiyal izolat, Phoenix otomatize sistemiyle tanımlanamayan 1 izolat ve Gram-negatif kokobasil boyama özelliği gösteren 2 *A. baumannii*, 1 *Alcaligenes faecalis* izolatı çalışma dışı bırakıldı. Yetmiş beş klinik izolatın HADT sonuçları değerlendirildi ve toplam 584 zon çapı ölçümü yapıldı.

Tablo 4. Etkenlerin servislere göre dağılımı

| Etken \ Servis | Yoğun bakım ünitesi (n=31) (%41,3) | Dahili servisler (n=26) (%34,7) | Cerrahi servisler (n=18) (%24) |
|-------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| <i>E. coli</i> , (n=27) | 9 (%33,3) | 7 (%26) | 11(%40,7) |
| <i>K. pneumoniae</i> , (n=26) | 15 (%57,7) | 8 (%30,8) | 3 (%11,5) |
| <i>P. aeruginosa</i> , (n=10) | 3 (%30) | 6 (%60) | 1 (%10) |
| <i>S. maltophilia</i> , (n=2) | 2 (%100) | 0 (%0) | 0 (%0) |
| Diğer etkenler, (n=10) | 2 (%20) | 5 (%50) | 3 (%30) |

Etkenlerin servislere göre dağılımı

75 monomikrobiyal Gram-negatif bakteriyemi atağının %41,3'ü yoğun bakım ünitesinde, %34,7'si dahili servislerde ve %24'ü cerrahi servislerde meydana gelmiştir. Bakteriyemi ataklarında en sık etken *E. coli*, ikinci olarak *K. pneumoniae* tespit edildi. *E. coli* bakteriyemilerin çoğu (%40,7) cerrahi servislerde, *K. pneumoniae* çoğu (%57,7) yoğun bakım ünitesinde meydana gelmiştir. *S. maltophilia* sadece yoğun bakım ünitesinde bakteriyemiye neden olmuştur. *P. aeruginosa* bakteriyemilerinin çoğu (%60) hematoloji servisini de içeren dahili servislerde meydana gelmiştir (Tablo 4).

Enterobacterales takımında, *E. coli* ve *K. pneumoniae* dışında *Serratia plymuthica*, *S. marcescens*, *Klebsiella oxytoca* (2 izolat), *Enterobacter* cinsi bakteri (2 izolat), *Salmonella* spp., *Kluyvera ascorbata* ve *Providencia stuartii* 9 izolat ve *Flavobacteriales* takımına ait olan *Elizabethkingia meningoseptica* (1 izolat) Gram-negatif bakteriyemi atağında etken olmuştur (Tablo 6).

Tablo 5. Katalaz testinin 4. 6 ve 8. saatteki sonuçları

| Etken \ Katalaz | <i>E. coli</i> (n=27) | <i>K. pneumoniae</i> (n=26) | <i>P. aeruginosa</i> (n=10) | <i>S. maltophilia</i> (n=2) | Diğerleri (n=10) |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| 4. saat katalaz pozitif | 6 (%22) | 10 (%38) | 1 (%10) | 1 (%50) | 5 (%50) |
| 6. saat katalaz pozitif | 24 (%89) | 26 (%100) | 7 (%70) | 1 (%50) | 7 (%70) |
| 8. saat katalaz pozitif | 26 (%96) | 26 (%100) | 8 (%80) | 2 (%100) | 9 (%90) |

Tablo 6. Diğer Gram-negatif çomakların oksidaz/katalaz testi sonuçları

| Diğer etkenler | Oksidaz | | | Katalaz | | |
|--------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 4. saat | 6. saat | 8. saat | 4. saat | 6. saat | 8. saat |
| <i>S. plymuthica</i> | X | X | X | X | X | X |
| <i>S. marcescens</i> | N | N | N | P | P | P |
| <i>K. oxytoca</i> (1) | N | N | N | N | N | P |
| <i>K. oxytoca</i> (2) | N | N | N | P | P | P |
| Enterobacter cinsi bakteri (1) | N | N | N | N | P | P |
| Enterobacter cinsi bakteri (2) | X | N | N | X | N | P |
| <i>E. meningoseptica</i> | N | N | N | N | P | P |
| <i>Salmonella</i> spp. | N | N | N | P | P | P |
| <i>K. ascorbata</i> | N | N | N | P | P | P |
| <i>P. stuartii</i> | N | N | N | P | P | P |

N:Negatif, P:Pozitif, X:Üreme yok

Tablo 7. Diğer etkenlerin 4. 6. ve 8. saatlerdeki yeniden düzenlenmiş sınır değere göre yorumlanması

| Diğerleri | Seftazidim | | | Meropenem | | | Seftazidim-Avibaktam | | |
|---------------------------------------|------------|---------|---------|-----------|---------|---------|----------------------|---------|---------|
| | 4. saat | 6. saat | 8. saat | 4. saat | 6. saat | 8. saat | 4. saat | 6. saat | 8. saat |
| <i>S. plymuthica</i> | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| <i>S. marcescens</i> | - | Du | Du | - | Du | Du | - | Du | Du |
| <i>K. oxytoca</i> (1) | - | Di | Di | Di | Di | Di | - | Du | Du |
| <i>K. oxytoca</i> (2) | Di | Di | Di | Di | Di | Di | TBA | Di | Di |
| <i>Enterobacter</i> cinsi bakteri (1) | Di | Di | Di | Du | Du | Du | Du | Du | Du |
| <i>Enterobacter</i> cinsi bakteri (2) | X | Du | Du | X | Du | Du | X | Du | Du |
| <i>E. meningoseptica</i> | - | Di | Di | - | TBA | Du | - | Du | Di |
| <i>Salmonella</i> spp. | Du | Du | Du | Du | Du | Du | Du | Du | Du |
| <i>K. ascorbata</i> | Du | Du | Du | Du | Du | Du | Du | Du | Du |
| <i>P. stuartii</i> | Di | Du | Du | Du | Du | Du | Du | Du | Du |
| <i>S. maltophilia</i> (1) | X | X | Di | X | X | Di | X | X | Di |
| <i>S. maltophilia</i> (2) | Di | Di | Di | Di | Di | Di | Di | Di | Di |

Di: Dirençli, Du: Duyarlı, TBA: Teknik belirsizlik alanı

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU

Tablo 8. *P. aeruginosa* 4. 6. ve 8. saate göre oksidaz test sonuçları

| <i>P. aeruginosa</i> oksidaz testi | 4. saat | 6. saat | 8. saat |
|------------------------------------|---------|---------|---------|
| Oksidaz pozitif | 2 (%20) | 8 (%80) | 8 (%80) |
| Üreme yok | 8 | 2 | 2 |

Oksidaz/katalaz testlerinin 4. 6. ve 8. saatteki sonuçları

Katalaz testi, 4. saatte yapılan okumada *E. coli*'lerin %22'sinde, *K. pneumoniae*'lerin %38'inde, 6. saatte yapılan okumada *E. coli*'lerin %89'unda, *K. pneumoniae*'lerin %100'ünde, 8. saatte yapılan okumada *E. coli*'lerin %96'sında, *K. pneumoniae*'lerin %100'ünde pozitifleştiği gözlemlendi (Tablo 5).

Oksidaz testi, *P. aeruginosa*'da 4. saatte %20 pozitifleşti fakat bu izolatlarda inhibisyon zonları net olmadığından zon ölçümü yapılamadı, 6. saatte bu oran %80'e ulaştı, 2 (%20) izolatta ise 6. ve 8. saatte üreme saptanmadı. *E. meningoseptica* oksidaz pozitif bir bakteri olmasına rağmen 4. 6. ve 8. saatte oksidaz negatif sonuç verdi (Tablo 6, Tablo 8).

Tablo 9. Yeniden düzenlenmiş sınır değerlere göre *E. coli* HADT performansı

| <i>E. coli</i> HADT performansı (n=27) | | | | | | | | | | |
|--|--------------|---------------------|---|----|--------------------|----------|--------------------|---------|---------|---------|
| Antibiyotik | Okuma zamanı | Referans duyarlılık | | | Okunabilen zon (%) | TBA (%) | Kategorik Uyum (%) | KH (%) | BH (%) | ÇBH (%) |
| | | Du | O | Di | | | | | | |
| Seftazidim | 4. saat | 10 | 1 | 16 | 24 (88) | 3 (12,6) | 95,2 | 1 (4,7) | 0 | 0 |
| | 6. saat | 10 | 1 | 16 | 27 (100) | 1 (3,7) | 96,1 | 1 (3,8) | 0 | 0 |
| | 8. saat | 10 | 1 | 16 | 27 (100) | 1 (3,7) | 96,1 | 1 (3,8) | 0 | 0 |
| Meropenem | 4. saat | 27 | 0 | 0 | 25 (93) | 1 (4) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 27 | 0 | 0 | 27 (100) | 1 (3,7) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 8. saat | 27 | 0 | 0 | 27 (100) | 0 | 96,2 | 0 | 1 (3,7) | 0 |
| Seftazidim-Avibaktam | 4. saat | 27 | 0 | 0 | 24 (89) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 27 | 0 | 0 | 27 (100) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 8. saat | 27 | 0 | 0 | 27 (100) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| Toplam | 4. saat | 64 | 1 | 16 | 73 (90,1) | 4 (5,5) | 98,6 | 1 (1,4) | 0 | 0 |
| | 6. saat | 64 | 1 | 16 | 81 (100) | 2 (2,4) | 98,8 | 1 (1,3) | 0 | 0 |
| | 8. saat | 64 | 1 | 16 | 81 (100) | 1 (1,2) | 97,6 | 1 (1,3) | 1 (1,3) | 0 |

BH:Büyük hata, ÇBH:Çok büyük hata, Di:Dirençli, Du:Duyarlı, HADT:Hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi, KH:Küçük hata, O:Orta duyarlı (Duyarlı, yüksek dozda), TBA:Teknik belirsizlik alanı

Tablo 10. EUCAST HADT sınır değerlere göre *E. coli* HADT performansı

| <i>E. coli</i> HADT performansı (n=27) | | | | | | | | | | |
|--|--------------|---------------------|---|----|--------------------|----------|--------------------|---------|---------|---------|
| Antibiyotik | Okuma zamanı | Referans duyarlılık | | | Okunabilen zon (%) | TBA (%) | Kategorik Uyum (%) | KH (%) | BH (%) | ÇBH (%) |
| | | Du | O | Di | | | | | | |
| Seftazidim | 4. saat | 10 | 1 | 16 | 24 (88) | 3 (12,6) | 95,2 | 1 (4,7) | 0 | 0 |
| | 6. saat | 10 | 1 | 16 | 27 (100) | 1 (3,7) | 96,1 | 1 (3,8) | 0 | 0 |
| | 8. saat | 10 | 1 | 16 | 27 (100) | 1 (3,7) | 96,1 | 1 (3,8) | 0 | 0 |
| Meropenem | 4. saat | 27 | 0 | 0 | 25 (93) | 1 (4) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 27 | 0 | 0 | 27 (100) | 1 (3,7) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 8. saat | 27 | 0 | 0 | 27 (100) | 0 | 96,2 | 0 | 1 (3,7) | 0 |
| Seftazidim-Avibaktam | 4. saat | 27 | 0 | 0 | 24 (89) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 27 | 0 | 0 | 27 (100) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 8. saat | 27 | 0 | 0 | 27 (100) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| Toplam | 4. saat | 64 | 1 | 16 | 73 (90,1) | 4 (5,5) | 98,6 | 1 (1,4) | 0 | 0 |
| | 6. saat | 64 | 1 | 16 | 81 (100) | 2 (2,4) | 98,8 | 1 (1,3) | 0 | 0 |
| | 8. saat | 64 | 1 | 16 | 81 (100) | 1 (1,2) | 97,6 | 1 (1,3) | 1 (1,3) | 0 |

BH:Büyük hata, ÇBH:Çok büyük hata, Di:Dirençli, Du:Duyarlı, HADT:Hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi, KH:Küçük hata, O:Orta duyarlı (Duyarlı, yüksek dozda), TBA:Teknik belirsizlik alanı

E. coli'nin HADT performansı

Toplamda 27 *E. coli* izolatının performansı, yeniden düzenlenmiş sınır değer ve EUCAST HADT tablosuna göre ayrı ayrı değerlendirildi (Tablo 9, Tablo 10). Referans duyarlılığa göre tüm *E. coli* izolatları, meropenem ve seftazidim-avibaktam duyarlıydı, seftazidimin ise %59,2 dirençli ve %37'si duyarlıydı. 4. saatte okunabilen zon oranı seftazidim, meropenem ve seftazidim-avibaktam sırasıyla %88, %93 ve %89 idi. Diğer okuma saatlerinde tamamı okunabildi.

Seftazidim için 4. saatte TBA oranı %12,5 olarak saptanırken, bu oran 6. ve 8. saatte %3,7'ye geriledi. KU 4. saatte %95,2 iken 6. ve 8. saatte %96,1'e yükseldi. Tüm okuma saatlerinde sadece bir hata gözlemlendi ve BH ve ÇBH gözlenmedi. Meropenem için TBA 4. saatte %4 saptandı, bu oran 6. saatte %3,7 geriledi, ancak bu TBA 8. saatteki okumada 1 izolatta BH neden oldu ve bu durum meropenem KU'nun 8. saatteki okumada %96,2'e gerilemesine neden oldu. Seftazidim-avibaktam için TBA ve herhangi bir hata (KH, BH, ÇBH) gözlenmedi.

Toplam okunabilen zonların 4. saatte %90,1'i, diğer okuma saatlerinde tamamı okundu. TBA 4. 6. ve 8. saatlerde sırayla %5,5; %2,4 ve %1,2'e geriledi. KU 4. 6. ve 8. saatlerde sırayla %98,6; %98,6 ve %97,6 olarak saptandı. 4. 6. ve 8. okumadaki saatlerde toplam hata sırayla %1,4; %1,3 ve %2,6 olarak saptandı. Hem yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosu hem de EUCAST HADT tablosuna göre ayrı ayrı değerlendirilen izolatlar arasında KU, TBA, KH, BH ve ÇBH arasında aynı oranlar saptandı.

Tablo 11. Yeniden düzenlenmiş sınır değerlere göre *K. pneumoniae* HADT performansı

| <i>K. pneumoniae</i> HADT performansı (n=26) | | | | | | | | | | |
|--|--------------|---------------------|---|----|--------------------|---------|--------------------|--------|---------|---------|
| Antibiyotik | Okuma zamanı | Referans duyarlılık | | | Okunabilen zon (%) | TBA (%) | Kategorik Uyum (%) | KH (%) | BH (%) | ÇBH (%) |
| | | Du | O | Di | | | | | | |
| Seftazidim | 4. saat | 0 | 1 | 25 | 23 (88,4) | 1 (4,3) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 0 | 1 | 25 | 26 (100) | 1 (3,8) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 8. saat | 0 | 1 | 25 | 26 (100) | 1 (3,8) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| Meropenem | 4. saat | 7 | 0 | 19 | 22 (85) | 0 | 95,4 | 0 | 1 (4,5) | 0 |
| | 6. saat | 7 | 0 | 19 | 26 (100) | 0 | 96,1 | 0 | 1 (3,8) | 0 |
| | 8. saat | 7 | 0 | 19 | 26 (100) | 0 | 96,1 | 0 | 1 (3,8) | 0 |
| Seftazidim-Avibaktam | 4. saat | 14 | 0 | 12 | 23 (88,4) | 0 | 91,3 | 0 | 2 (8,7) | 0 |
| | 6. saat | 14 | 0 | 12 | 26 (100) | 0 | 92,3 | 0 | 2 (7,7) | 0 |
| | 8. saat | 14 | 0 | 12 | 26 (100) | 0 | 92,3 | 0 | 2 (7,7) | 0 |
| Toplam | 4. saat | 21 | 1 | 56 | 68 (87,1) | 1 (1,5) | 95,5 | 0 | 3 (4,5) | 0 |
| | 6. saat | 21 | 1 | 56 | 78 (100) | 1 (1,3) | 96,1 | 0 | 3 (3,9) | 0 |
| | 8. saat | 21 | 1 | 56 | 78 (100) | 1 (1,3) | 96,1 | 0 | 3 (3,9) | 0 |

BH:Büyük hata, ÇBH:Çok büyük hata, Di:Dirençli, Du:Duyarlı, HADT:Hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi, KH:Küçük hata, O:Orta duyarlı (Duyarlı, yüksek dozda), TBA:Teknik belirsizlik alanı

Tablo 12. EUCAST HADT sınır değerlere göre *K. pneumoniae* HADT performansı

| <i>K. pneumoniae</i> HADT performansı (n=26) |
|--|
|--|

| Antibiyotik | Okuma zamanı | Referans duyarlılık | | | Okunabilen zon (%) | TBA (%) | Kategorik Uyum (%) | KH (%) | BH (%) | ÇBH (%) |
|----------------------|--------------|---------------------|---|----|--------------------|---------|--------------------|--------|---------|---------|
| | | Du | O | Di | | | | | | |
| Seftazidim | 4. saat | 0 | 1 | 25 | 23 (88,4) | 1 (4,3) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 0 | 1 | 25 | 26 (100) | 1 (3,8) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 8. saat | 0 | 1 | 25 | 26 (100) | 1 (3,8) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| Meropenem | 4. saat | 7 | 0 | 19 | 22 (85) | 1 (4,5) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 7 | 0 | 19 | 26 (100) | 0 | 96,1 | 0 | 1 (3,8) | 0 |
| | 8. saat | 7 | 0 | 19 | 26 (100) | 0 | 96,1 | 0 | 1 (3,8) | 0 |
| Seftazidim-Avibaktam | 4. saat | 14 | 0 | 12 | 23 (88,4) | 0 | 91,3 | 0 | 2 (8,7) | 0 |
| | 6. saat | 14 | 0 | 12 | 26 (100) | 0 | 92,3 | 0 | 2 (7,7) | 0 |
| | 8. saat | 14 | 0 | 12 | 26 (100) | 0 | 92,3 | 0 | 2 (7,7) | 0 |
| Toplam | 4. saat | 21 | 1 | 56 | 68 (87,1) | 2 (2,9) | 96,7 | 0 | 2 (2,9) | 0 |
| | 6. saat | 21 | 1 | 56 | 78 (100) | 1 (1,3) | 96,1 | 0 | 3 (3,9) | 0 |
| | 8. saat | 21 | 1 | 56 | 78 (100) | 1 (1,3) | 96,1 | 0 | 3 (3,9) | 0 |

BH:Büyük hata, ÇBH:Çok büyük hata, Di:Dirençli, Du:Duyarlı, HADT:Hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi, KH:Küçük hata, O:Orta duyarlı (Duyarlı, yüksek dozda), TBA:Teknik belirsizlik alanı

K. pneumoniae'nin HADT performansı

Toplamda 26 *K. pneumoniae* izolatının performansı, yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosu ve EUCAST HADT tablosuna göre ayrı ayrı değerlendirildi (Tablo 11, Tablo 12). Referans duyarlılığa göre izolatların büyük bir kısmı seftazidime dirençli (%96,1), izolatların %73'ü meropenem dirençli, yaklaşık olarak izolatların yarısı (%46,1) seftazidim-avibaktam dirençli raporlandı. 4. saatte okunabilen zon oranı seftazidim, meropenem ve seftazidim-avibaktam sırasıyla %88,4; %88,4 ve %88,4 idi. Diğer okuma saatlerinde tamamı okunabildi.

Seftazidim için hem yeniden düzenlenmiş sınır değer hem de EUCAST HADT tablosuna göre tüm okuma saatlerinde KU %100 hesaplandı ve herhangi bir hata (KH, BH, ÇBH) saptanmadı.

Meropenem için hem yeniden düzenlenmiş sınır değer ve hem de EUCAST HADT tablosuna göre tüm okuma saatlerinde TBA, KH ve ÇBH saptanmadı. Tüm okuma saatlerinde $KU \geq \%90$ ve $BH \geq \%3$ hesaplandı. EUCAST HADT tablosuna göre, yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosundan farklı olarak meropenemde 4. saatteki okumada %4,5 (1/22) TBA saptandı, bu izolat dirençli sınır değere yakın olması nedeniyle yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosunda bir BH olarak saptandı. Hem yeniden düzenlenmiş sınır değer ve hem de EUCAST HADT tablosuna göre 6. ve 8. saatteki okumalarda aynı oranlar saptandı.

Seftazidim-avibaktam için hem yeniden düzenlenmiş sınır değer hem de EUCAST HADT tablosuna göre tüm okuma saatlerinde TBA, KH ve ÇBH gözlenmedi. Tüm okuma saatlerinde $KU \geq \%90$ ve $BH \geq \%3$ gözlemlendi.

Toplam okunabilen zonların 4. saatte %87,1'i, diğer okuma saatlerinde tamamı okundu. Hem yeniden düzenlenmiş sınır değer hem de tablosuna göre tüm okuma saatlerinde $KU \geq \%95$ hesaplandı. EUCAST HADT performansı, yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosundan farklı olarak sadece 4. saatteki okumada $BH \leq \%3$ hesaplandı. (Tablolar arasındaki farklılıklar sarı renkle gösterildi.)

Tablo 13. Yeniden düzenlenmiş sınır değere göre *E. coli* ve *K. pneumoniae* dışındaki oksidaz negatif çomakların HADT performansı

| <i>E. coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> dışındaki oksidaz negatiflerin HADT performansı (n=12) | | | | | | | | | | |
|---|--------------|---------------------|---|----|--------------------|---------|--------------------|--------|--------|---------|
| Antibiyotik | Okuma zamanı | Referans duyarlılık | | | Okunabilen zon (%) | TBA (%) | Kategorik Uyum (%) | KH (%) | BH (%) | ÇBH (%) |
| | | Du | O | Di | | | | | | |
| Seftazidim | 4. saat | 5 | 0 | 7 | 6 (50) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 5 | 0 | 7 | 10 (83,3) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 8. saat | 5 | 0 | 7 | 11 (91,7) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| Meropenem | 4. saat | 7 | 0 | 5 | 7 (58,3) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 7 | 0 | 5 | 10 (83,3) | 1 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 8. saat | 7 | 0 | 5 | 11 (91,7) | 0 | 91 | 0 | 0 | 1 (9,1) |
| Seftazidim-Avibaktam | 4. saat | 8 | 0 | 4 | 5 (41,7) | 1 (20) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 8 | 0 | 4 | 10 (83,3) | 0 | 90 | 0 | 0 | 1 (10) |
| | 8. saat | 8 | 0 | 4 | 11 (91,7) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| Toplam | 4. saat | 20 | 0 | 16 | 18 (50) | 1 (5,6) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 20 | 0 | 16 | 30 (83) | 0 | 97 | 0 | 0 | 1 (3,3) |
| | 8. saat | 20 | 0 | 16 | 33 (91,7) | 0 | 96,7 | 0 | 0 | 1 (3) |

BH:Büyük hata, ÇBH:Çok büyük hata, Di:Dirençli, Du:Duyarlı, HADT:Hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi, KH:Küçük hata, O:Orta duyarlı (Duyarlı, yüksek dozda), TBA:Teknik belirsizlik alanı

Yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosuna göre *E. coli* ve *K. pneumoniae* dışındaki oksidaz negatif çomakların HADT performansı

S. plymuthica, *S. marcescens*, *K. oxytoca* (2 izolat), *Enterobacter* cinsi bakteri (2 izolat), *Salmonella* spp., *K. ascorbata*, *P. stuartii*, *S. maltophilia* (2 izolat), ve *E. meningoseptica* olmak üzere toplam 12 izolat sadece yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosuna göre değerlendirildi (Tablo 13). *S. maltophilia*, 4. 6. ve 8. saatteki okumalarda oksidaz negatif sonuç verdiği için burada değerlendirildi. EUCAST HADT tablosunda yukarıda sayılan izolatlar için tanımlanmış sınır değer tablosu olmadığından ayrı bir değerlendirme yapılmadı. Referans

duyarlılığa göre seftazidim ve meropenem için, izolatların yaklaşık yarısının dirençli olduğu hesaplandı. Seftazidim-avibaktam %67,7'si duyarlı saptandı. 4. saatte her üç antimikrobiyal ajanın yaklaşık yarısı okunabilirken, 6. ve 8. saatlerde okunabilen zonlar belirgin artış gösterdi. Seftazidim için tüm okuma saatlerinde KU %100 olarak hesaplandı ve TBA, KH, BH ve ÇBH saptanmadı. 8. saatte meropenemde ve 6. saatte seftazidim-avibaktamda bir ÇBH saptandı. Tüm okuma saatlerinde KU \geq %97 hesaplandı. Tüm antimikrobiyal ajanlar için tüm okuma saatlerinde herhangi bir KH ve BH saptanmadı.

Tablo 14. Yeniden düzenlenmiş sınır değerlere göre oksidaz negatif çomakların HADT performansı

| Oksidaz negatif HADT performansı (n=65) | | | | | | | | | | |
|---|--------------|---------------------|---|----|--------------------|---------|--------------------|---------|---------|---------|
| Antibiyotik | Okuma zamanı | Referans duyarlılık | | | Okunabilen zon (%) | TBA (%) | Kategorik uyum (%) | KH (%) | BH (%) | ÇBH (%) |
| | | Du | O | Di | | | | | | |
| Seftazidim | 4. saat | 15 | 2 | 48 | 53 (81,6) | 4 (7,5) | 98 | 1 (2) | 0 | 0 |
| | 6. saat | 15 | 2 | 48 | 63 (97) | 2 (3,2) | 98,3 | 1 (1,6) | 0 | 0 |
| | 8. saat | 15 | 2 | 48 | 64 (98,4) | 2 (3,1) | 98,3 | 1 (1,6) | 0 | 0 |
| Meropenem | 4. saat | 41 | 0 | 24 | 54 (83) | 1 (1,9) | 98,1 | 0 | 1 (1,9) | 0 |
| | 6. saat | 41 | 0 | 24 | 63 (97) | 2 (3,1) | 98,3 | 0 | 1 (1,6) | 0 |
| | 8. saat | 41 | 0 | 24 | 64 (98,4) | 0 | 97 | 0 | 2 (3,1) | 1 (1,6) |
| Seftazidim-Avibaktam | 4. saat | 49 | 0 | 16 | 52 (80) | 1 (1,9) | 96 | 0 | 2 (4) | 0 |
| | 6. saat | 49 | 0 | 16 | 63 (97) | 0 | 95,2 | 0 | 2 (3,1) | 1 (1,6) |
| | 8. saat | 49 | 0 | 16 | 64 (98,4) | 0 | 97 | 0 | 2 (3,1) | 0 |
| Toplam | 4. saat | 105 | 2 | 88 | 159 (82) | 6 (3,8) | 97,3 | 1 (0,6) | 3 (2) | 0 |
| | 6. saat | 105 | 2 | 88 | 190 (97,4) | 4 (2,1) | 97,3 | 1 (0,5) | 3 (1,6) | 1 (0,5) |
| | 8. saat | 105 | 2 | 88 | 192 (98,4) | 2 (1) | 97,3 | 1 (0,5) | 4 (2,1) | 1 (0,5) |

BH: Büyük hata, ÇBH:Çok büyük hata, Di:Dirençli, Du:Duyarlı, HADT:Hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi, KH:Küçük hata, O:Orta duyarlı (Duyarlı, yüksek dozda), TBA:Teknik belirsizlik alanı

Tablo 15. EUCAST HADT sınır değerlere göre oksidaz negatif çomakların HADT performansı

| Oksidaz negatif HADT performansı (n=65) | | | | | | | | | | |
|---|--------------|---------------------|---|----|--------------------|---------|--------------------|---------|---------|---------|
| Antibiyotik | Okuma zamanı | Referans duyarlılık | | | Okunabilen zon (%) | TBA (%) | Kategorik Uyum (%) | KH (%) | BH (%) | ÇBH (%) |
| | | Du | O | Di | | | | | | |
| Seftazidim | 4. saat | 15 | 2 | 48 | 53 (81,6) | 4 (7,5) | 98 | 1 (2) | 0 | 0 |
| | 6. saat | 15 | 2 | 48 | 63 (97) | 2 (3,2) | 98,3 | 1 (1,6) | 0 | 0 |
| | 8. saat | 15 | 2 | 48 | 64 (98,4) | 2 (3,1) | 98,3 | 1 (1,6) | 0 | 0 |
| Meropenem | 4. saat | 41 | 0 | 24 | 54 (83) | 2 (3,7) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 6. saat | 41 | 0 | 24 | 63 (97) | 2 (3,1) | 98,3 | 0 | 1 (1,6) | 0 |
| | 8. saat | 41 | 0 | 24 | 64 (98,4) | 0 | 97 | 0 | 2 (3,1) | 1 (1,6) |
| Seftazidim-Avibaktam | 4. saat | 49 | 0 | 16 | 52 (80) | 1 (1,9) | 96 | 0 | 2 (4) | 0 |
| | 6. saat | 49 | 0 | 16 | 63 (97) | 0 | 95,2 | 0 | 2 (3,1) | 1 (1,6) |
| | 8. saat | 49 | 0 | 16 | 64 (98,4) | 0 | 97 | 0 | 2 (3,1) | 0 |
| Toplam | 4. saat | 105 | 2 | 88 | 159 (82) | 7 (4,4) | 98,7 | 1 (0,7) | 2 (1,3) | 0 |
| | 6. saat | 105 | 2 | 88 | 190 (97,4) | 4 (2,1) | 97,3 | 1 (0,5) | 3 (1,6) | 1 (0,5) |
| | 8. saat | 105 | 2 | 88 | 192 (98,4) | 2 (1) | 97,3 | 1 (0,5) | 4 (2,1) | 1 (0,5) |

BH: Büyük hata, ÇBH:Çok büyük hata, Di:Dirençli, Du:Duyarlı, HADT:Hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi, KH:Küçük hata, O:Orta duyarlı (Duyarlı, yüksek dozda), TBA:Teknik belirsizlik alanı

Yeniden düzenlenmiş sınır değer ve EUCAST HADT tablosuna göre oksidaz negatif çomakların HADT performansı

Toplamda 65 oksidaz negatif izolatının performansı, yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosu ve EUCAST HADT göre ayrı ayrı değerlendirildi (Tablo 14, Tablo 15). Referans duyarlılığa göre izolatların %73,9'ü seftazidime, %37'si meropenem ve %24,7'si seftazidim-avibaktama dirençli saptandı. Seftazidim, meropenem ve seftazidim-avibaktam için 6. ve 8. saatlerde zonların \geq %97 okunabildi. Seftazidim, meropenem ve seftazidim-avibaktam için tüm okuma saatlerinde $KU \geq$ %95'in üzerinde hesaplandı. Meropenem ve seftazidim-avibaktamda tüm okuma saatlerinde KH gözlenmedi. En yüksek TBA oranı (%7,5) 4. saatte seftazidimde saptandı. En yüksek BH oranı (%4) 4. saatte seftazidim-avibaktamda saptandı.

Seftazidim için herhangi bir okuma saatinde BH, ÇBH gözlenmedi. Seftazidim için hem yeniden düzenlenmiş sınır değer hem de EUCAST HADT tablosu göre aynı oranlar saptandı.

Meropenem için 8. saatte iki izolatta (%3,1) BH saptandı, ayrıca 8. saatte bir izolatta (%1,6) ÇBH saptandı. Hem yeniden düzenlenmiş sınır değer hem de EUCAST HADT tablosu göre 6. ve 8. saatteki okumalarda aynı oranlar saptandı. Sadece 4. saatte bir izolatın dirençli sınır değere yakın olmasından kaynaklı bir büyük hata gözlemlendi.

Seftazidim-avibaktam için hem yeniden düzenlenmiş sınır değer hem de EUCAST HADT tablosu göre aynı oranlar saptandı.

Oksidaz negatif çomakların genel toplamı

4. 6. ve 8. okuma saatlerinde tüm okunabilen diskler sırasıyla %82, %97,4 ve %99'a yükseldi. Tüm TBA'lar 4. 6. ve 8. okuma saatlerinde sırasıyla %3,8; %2,1 ve %1'e geriledi. Genel KU tüm okuma saatlerinde $KU \geq$ %95'in üzerinde hesaplandı. 4. 6. ve 8. saatlerdeki toplam hata sırasıyla %2,6, %2,9 ve %3,2 hesaplandı. Hem yeniden düzenlenmiş sınır değer hem de EUCAST HADT tablosu göre 6. ve 8. saatte KU, TBA, KH, BH ve ÇBH'da yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosuyla aynı oranlar saptandı. 4. saatteki bir KH ve bir BH dışında başka hata saptanmadı, benzer sonuçlar elde edildi.

Tablo 16. Oksidaz negatif çomakların 4. 6. ve 8 saate göre Du veya Di olarak yorumlanabilenlerin oranı

| Du veya Di olarak yorumlanabilme (n=65) | | |
|---|--------------|-----------|
| Antibiyotik | Okuma zamanı | Yorum (%) |
| Seftazidim | 4. saat | 75,3 |
| | 6. saat | 94 |
| | 8. saat | 95,3 |
| Meropenem | 4. saat | 82 |
| | 6. saat | 94 |
| | 8. saat | 95,3 |
| Seftazidim-Avibaktam | 4. saat | 78,4 |
| | 6. saat | 97 |
| | 8. saat | 98,4 |
| Toplam | 4. saat | 78,4 |
| | 6. saat | 95,3 |
| | 8. saat | 98,4 |

Di:Dirençli, Du:Duyarlı, TBA:Teknik belirsizlik alanı

Oksidaz negatif çomakların yorumlanabilme süreleri ve oranları

Oksidaz negatiflerde, 4. saatte tüm seftazidim disklerinin %75,3'ü duyarlı veya dirençli olarak yorumlanabilirken bu oran 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %94 ve %95,3'e artış gösterdi. 4. saatte tüm meropenem disklerinin %82'si duyarlı veya dirençli yorumlanabildi, 6. ve 8. saatlerde bu oran sırasıyla %94 ve %95,3'e yükseldi. 4. saatte tüm seftazidim-avibaktam disklerinin %78,4'ü yorumlanabildi, 6. ve 8. saatlerde bu oran sırasıyla %97 ve %98,4'e yükseldi. Genel olarak 6. ve 8. saatte \geq %95'in üzerinde yorumlanabildi. *S. plymuthica* izolatında tüm okuma saatlerinde üreme saptanmaması nedeniyle %100 yorumlanabilme tüm okuma saatlerinde gerçekleşemedi (Tablo 16).

Tablo 17. *P. aeruginosa* HADT performansı

| <i>P. aeruginosa</i> HADT performansı (n=10) | | | | | | | | | | |
|--|--------------|---------------------|---|----|--------------------|----------|--------------------|--------|----------|---------|
| Antibiyotik | Okuma zamanı | Referans duyarlılık | | | Okunabilen zon (%) | TBA (%) | Kategorik Uyum (%) | KH (%) | BH (%) | ÇBH (%) |
| | | Du | O | Di | | | | | | |
| Seftazidim | 4. saat | 6 | 0 | 4 | 0 | - | - | - | - | - |
| | 6. saat | 6 | 0 | 4 | 7 (70) | 0 | 57 | 0 | 3 (43) | 0 |
| | 8. saat | 6 | 0 | 4 | 8 (80) | 0 | 63 | 0 | 3 (38) | 0 |
| Meropenem | 4. saat | 7 | 0 | 3 | 0 | 0 | - | - | - | - |
| | 6. saat | 7 | 0 | 3 | 7 (70) | 1 (14,3) | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 8. saat | 7 | 0 | 3 | 8 (80) | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| Seftazidim-Avibaktam | 4. saat | 7 | 0 | 3 | 0 | - | - | - | - | - |
| | 6. saat | 7 | 0 | 3 | 5 (50) | 1 (20) | 75 | 0 | 1 (25) | 0 |
| | 8. saat | 7 | 0 | 3 | 8 (80) | 0 | 75 | 0 | 2 (25) | 0 |
| Toplam | 4. saat | 20 | 0 | 10 | 0 | - | - | - | - | - |
| | 6. saat | 20 | 0 | 10 | 19 (63,3) | 2 (10,5) | 76,5 | 0 | 4 (23,6) | 0 |
| | 8. saat | 20 | 0 | 10 | 24 (80) | 0 | 79,1 | 0 | 5 (21) | 0 |

BH:Büyük hata, ÇBH:Çok büyük hata, Di:Dirençli, Du:Duyarlı, HADT:Hızlı antimikrobiyal

duyarlılık testi, KH:Küçük hata, O:Orta duyarlı (Duyarlı, yüksek dozda), TBA:Teknik belirsizlik alanı

Seftazidim için okunabilen zon 6. ve 8. okuma saatlerinde sırasıyla %70 ve %80

gözlendi. Tüm okumalarda TBA saptanmadı. KU 6. ve 8. okuma saatlerinde sırasıyla %57 ve %63 olarak hesaplandı. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %43 ve %38 BH saptandı. KH ve ÇBH saptanmadı.

Meropenem için okunabilen zon 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %70 ve %80 saptandı. 4. ve 8. saatte TBA saptanmadı. 6. saatte bir izolatta TBA saptandı. KH, BH ve ÇBH saptanmadı ve KU tüm okumalarda %100 olarak hesaplandı.

Seftazidim-avibaktam için okunabilen zon 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %50 ve %80 olarak saptandı. 6. saatte 1 izolatta TBA saptandı. KU 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %75 ve %75 olarak hesaplandı. 6. saatte bir izolatta, 8. saatte ise iki izolatta BH saptandı. KH ve ÇBH saptanmadı.

Toplam okumalarda 6. ve 8. saatte sırasıyla okunabilen zon %63,3 ve %80 saptandı. 6. saatte toplam okumada iki izolatta TBA saptandı. KU 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %76,5 ve %79,1 hesaplandı. 6. saatte toplam dört izolat, 8. saatte toplam beş izolatta BH saptandı. Tüm toplam okumalarda KH ve ÇBH saptanmadı (Tablo 17).

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU

5. İRDELEME

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında kan kültüründe üreme olması halinde mortaliteyi engelleyebilmek için en kısa sürede doğru etken tanımlaması ve ADT sonucunun belirlenmesi gerekmektedir. 2019 yılında Avrupa’da yapılan bir çalışmada, laboratuvarların %5’inden azının kan kültürü tanımlamasını ve ADT sonuçlarını 24 saatte raporladığı ve laboratuvarların %21,6’sının ise pazar günleri sonuç raporlamadığını gösterilmiştir (44). Antimikrobiyal direnç oranlarındaki artış göz önüne alındığında ağır infeksiyonlarda seçilen ampirik tedaviyle başarısızlık ihtimali artar. Etkili tedaviyi alana kadar geçen süre uzadıkça mortalite oranı artar, bu nedenle etkili tedavinin başlanmasına kadar geçen sürenin kısaltılması oldukça önemlidir (5, 45). Özellikle Gram-negatif bakteriyemi ataklarında hızlı ve uygun tedavi başlanmadığı takdirde mortalitenin arttığı çalışmalarda gösterilmiş (46, 47).

Hastanemizde son yıllarda GSBL veya karbapenemaz üreten Gram-negatif çomakların oluşturduğu infeksiyonlarda ciddi artış olduğu görülmektedir. Bu nedenle toplum kökenli infeksiyonlarda üçüncü kuşak sefalosporinler, nozokomiyal infeksiyonlarda ise karbapenemler ampirik seçimlerde güvenilir seçenekler olmaktan çıkmıştır. Diğer yönden ise gereksiz geniş spektrumlu antibiyotik tedavinin de hem dirence hem de maliyete olumsuz katkısının azaltılması gerekmektedir. Etkili antibiyotik seçimine katkı sağlayacak hızlı ve ucuz yöntem ihtiyacı nedeniyle identifikasyon yapılmadan da Gram-negatif çomakların EUCAST HADT yöntemini kullanarak üçüncü kuşak sefalosporin, karbapenem ve seftazidim-avibaktam duyarlılığı değerlendirildi. Gram-negatif çomaklardan oksidaz testi negatif olanlar kılavuzda yer alan *Enterobacterales* için en yüksek sınır değerleri temel alınarak, oksidaz pozitifler ise *P. aeruginosa* sınır değerlerine göre değerlendirilerek yöntemin geçerliliği araştırıldı.

Çalışmamız, oksidaz negatif Gram-negatiflerde tüm okuma saatlerinde genel KU \geq %97 performans göstermiştir. Toplam KH, BH ve ÇBH oranları da FDA tarafından kabul edilebilir sınırlar içerisinde kalmıştır. Çalışmamızda ve 110 *Enterobacterales* takım üyesini içeren başka bir çalışmada en sık Gram-negatif bakteriyemi etkeni olarak *E. coli* ve *K. pneumoniae* saptanmıştır (48). Bu en sık etkenlerin ampirik tedavisinde sıklıkla tercih edilen üçüncü kuşak sefalosporinlerden seftazidim ve karbapenemlerden meropenem çalışmamızda analiz edilmiş, her iki antimikrobiyal ajan için KU \geq %95 hesaplanmış ve düşük hata sayısı saptanmıştır. Aynı zamanda, çalışmamızdaki üçüncü kuşak sefalosporin, karbapenem direncinin fazla olması da HADT yönteminin ÇİD patojen sayısı fazla olan merkezler için uygulanabilirliğini göstermektedir. Çalışmamızda ayrıca, *E. coli* ve *K. pneumoniae* dışındaki *Enterobacterales* takımının diğer üyeleri de analize dahil edildi.

Oksidaz negatif Gram-negatif çomaklarda (n=65) 4, 6 ve 8 saatlik inkübasyonla toplam okunabilen (%82, %97,4 ve %98,4) ve yorumlanabilen (%78,4, %95,3 ve %98,4) izolatların zon çaplarının sayısının inkübasyon süresiyle doğru orantılı olarak artış gösterdiği ve TBA oranının inkübasyon süresiyle azaldığı gözlemlendi (4, 6 ve 8 saatlik inkübasyonla sırasıyla %3,8; %2,1 ve %1). Bu bulgular 4. saatte belirlenemeyen duyarlılığın 6. veya 8. saate elde edilebileceğini göstermektedir. Benzer bulgular, 55 laboratuvarın katılımıyla çok merkezli gerçekleştirilen Åkerlund ve ark.'nın çalışmasında da zon çaplarının okunabilirlik (%88, %96, %99) ve yorumlanabilirlik (%70, %81, %85) oranlarında 4. 6. ve 8. saatlerde artış göstermiştir (49).

Dikkatimizi çeken bir başka durum ise oksidaz negatif Gram-negatif çomaklarda ve *P. aeruginosa*'da 6. ve 8. saatlerde okunabilen zon sayılarında ve hata oranlarında belirgin fark gözlenmedi. 2017 yılında yapılan bir çalışmada benzer şekilde, 6 ve 8 saatlik inkübasyon sonrasındaki okumalarda okunabilen zonlarda ve hata oranlarında belirgin değişiklik olmadığı gözlenmiş (50). Otomatik okuma sistemine sahip olmayan laboratuvarlarda, personel yetersizliği ya da iş akışı kısıtlılıkları gibi nedenlerle 6. ve 8. saatlerde iki ayrı okuma yapılması her zaman mümkün olmayabilir. Bu durumu iyileştirmek için yalnızca 6. saatte tek bir okumanın yapılması, EUCAST HADT yönteminin pratikliğini artırabilir dolayısıyla bazı kısıtlılıkları ortadan kaldırabilir. Ancak, bu görüşün geçerliliğini doğrulamak için daha fazla çalışmayla desteklenmelidir.

Bir çalışmada HADT olmadan MALDI-TOF MS'le hızlı bir şekilde sadece tür düzeyinde tanımlamanın yapılmasının sağkalımda ve antimikrobiyal kullanımda bir avantaj sağlamamış, infeksiyon hastalıkları hekimiyle birlikte değerlendirilmenin yapılması önerilmiş (51). Klinik mikrobiyoloji laboratuvarımızda en sık Gram-negatif bakteriyemi etkenleri olan *E. coli* ve *K. pneumoniae* için 6. saatte %98 oranında sonuç elde edebilmesi ve çalışmamızın üçüncü kuşak ve karbapenem direncini tespit etmedeki yüksek performansı, eş zamanlı infeksiyon hastalıkları hekiminin değerlendirmesiyle birlikte hastaya aynı gün içerisinde etkin tedavinin düzenlenebileceğini ve erken temas izolasyon önlemlerinin alınabileceğini göstermektedir.

Oksidaz negatif Gram-negatiflerde 4. saatte genel TBA oranı %3,8 olup tüm disklerin %82'si okundu ve %78,4 yorumlanabildi. Mancini ve ark.'nın yaptığı HADT çalışmasında WASPLab® otomatik okuma sistemi kullanılarak 6. ve 8. saatlerde okuma gerçekleştirilmiş ve HADT çalışması için inokulum miktarı değerlendirilmiş. 4 saatlik inkübasyonun HADT

değerlendirmesi için yetersiz büyüme olacağından araştırılmamış (52). Herroelen ve ark'nın yine WASPLab® otomatik okuma sistemi kullanılarak yapmış olduğu başka bir çalışmada ise *Enterobacterales* takımına ait 24 izolatla yapılan değerlendirmede, TBA oranı 4. saatte (%20,8) yüksek bir değer gözlenmiş (53). Dijital görüntüleme (BD Kiestra™) kullanılan diğer bir çalışmada ise 4. saatte toplam zonların %32,4'ü (207/641) okunabilmiştir (54). Bunların aksine çalışmamızdaki düşük TBA ve yüksek okunabilirlik oranı oksidaz negatif Gram-negatifler için EUCAST HADT kılavuzuyla uyumludur. Otomatik okuma sistemleriyle yapılan çalışmalarda 4. saatte yüksek TBA oranları olumsuz bir durum gibi görünürken manuel okumanın daha etkin okuma sağlıyor gibi görünmektedir.

Çalışmamızda, *E. coli* ve *K. pneumoniae*'de yüksek oranda seftazidim direnci, *K. pneumoniae*'de ise yüksek oranda karbapenem direnci saptanması dikkatimizi çekti. Ayrıca çalışmamızda katalaz testinde, 4. saatte *K. pneumoniae* izolatlarının %38'inde pozitiflik saptanırken, *E. coli*'de %22 olarak saptanmıştır. Üreme gözlenen tüm *P. aeruginosa* izolatlarında oksidaz testi pozitif saptanmıştır. Türkiye'den Tayşi ve ark.'nın çalışmamıza benzer bir şekilde gelişmiş laboratuvar sistemlerine sahip olmadan basit tanımlayıcı testlerle tahmini HADT üzerine yapmış olduğu bir çalışmada ise *E. coli* (n=51), *K. pneumoniae* (n=17), *P. aeruginosa* (n=2), *A. baumannii* (n=13) ve *E. coli* ve *K. pneumoniae* dışındaki *Enterobacterales* (n=12) izolatları değerlendirilmiş. *Enterobacterales* takımı için 4. 6. ve 8. okuma saatlerinde toplam hata oranları %3,2; %3,4; %3,3 ve KU sırasıyla %96,8; %96,6; %96,7 olarak gözlenmiştir. Bu çalışmada basit tanımlayıcı testler olarak Gram-negatif çomaklarda oksidaz/katalaz testi kullanılmış fakat pozitifleşme zamanı ve izolat-test eşleştirilmesi belirtilmemiş (55).

Tayşi ve ark'nın çalışmasında *E. coli*'deki seftazidim direnç oranımız benzer olmakla birlikte çalışmamızda daha yüksek oranda *K. pneumoniae*'de karbapenem direnci saptanmıştır. Bu çalışmada *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolat sayısı çalışmamızdan yüksekti. Bu çalışmadan farklı olarak *P. aeruginosa* izolat sayımız daha yüksekti. *E. coli* ve *K. pneumoniae* dışındaki izolat sayısı çalışmamıza yakındı. 4. 6. ve 8. okuma saatlerinde çalışmamıza benzer şekilde, KU ve toplam hata oranı gözlenmiştir. Bu çalışmadan farklı olarak çalışmamızda, karbapenem dirençli *Enterobacterales*'in tedavisinde yüksek potansiyele sahip bir antimikrobiyal ajan olan seftazidim-avibaktam değerlendirilmesi ve tüm okuma saatlerinde oksidaz/katalaz testinin zaman, izolat-test eşleştirilmesinin belirtilmesi çalışmamızı farklı kılmıştır.

Ayrıca, katalaz testinde gözlemediğimiz bu bulgu katalaz testinin, *K. pneumoniae*'de

daha erken pozitifleşme eğiliminde olduğunu göstermektedir ancak bu bulgunun doğrulanabilmesi için daha fazla örnekle desteklenmesi gerekmektedir. Ek olarak, üreme saptanan tüm *P. aeruginosa* izolatlarında oksidaz testi pozitif saptanmıştır. Oksidaz negatif Gram-negatif çomaklar için yeniden düzenlenmiş sınır değer ve EUCAST HADT tablosuna göre 4. saat hariç diğer okuma saatlerinde aynı KU ve hata oranları elde etmemiz, tür düzeyinde tanımlama olmadan oksidaz/katalaz gibi basit tanımlayıcı testler ve oluşturduğumuz yeni sınır değer tablosuyla yöntemimizin uygulanabileceğini desteklemektedir.

E. coli ve *K. pneumoniae* ayrı ayrı değerlendirdiğimizde tüm okuma saatlerinde seftazidim ve meropenem için $KU \geq \%95$ performans gösterdi. En yüksek TBA oranı (%12,6) seftazidimde 4. saatte *E. coli*'de saptandı. Dirençli sınır değere yakın olmasından kaynaklı 8. saatte *E. coli*'de bir BH (%3,7) saptandı. En yüksek hata oranı, *K. pneumoniae*'de meropenemde 4. saatte bir BH (%4,5) olarak saptandı. Pariona ve ark.'nın çalışmasında *K. pneumoniae* (n=48) ve *E. coli* (n=34) genel KU üzerinden değerlendirilmiş. 4. 6. ve 8. saatteki sırasıyla genel KU *K. pneumoniae* için %89,8; %91,4; %91,9 ve *E. coli* için %87, %91,2; %92 gözlenmiş. Tüm okuma saatlerindeki KH, BH, ÇBH oranları FDA'nın standartlarını sağlamış (56). Martins ve ark.'nın yapmış olduğu toplam 61 izolattan oluşan *E. coli* ve *K. pneumoniae* içeren HADT çalışmasında 4. ve 6. saatte karşılaştırmış. 4. saatte seftazidim ve meropenem için $KU \leq \%80$, yüksek KH ve TBA oranları gözlenmiş. 6. saatte ise $KU \geq \%95$ ve düşük KH oranları gözlenmiş. Ayrıca *K. pneumoniae*'de 4. saatte %5,1 BH oranı gözlenmiş (57). Cherkaoui ve ark.'nın 207 *E. coli* izolatıyla yaptığı çalışmada ise 4. saatte seftazidimde TBA oranı %11.5 gözlenmiş (58).

Çalışmamızda *E. coli* ve *K. pneumoniae* için Pariona ve ark.'nın ve Martins ve ark.'nın benzer şekilde 6. saatte yüksek KU oranı gözlendi. Ancak her iki çalışmadan farklı olarak 4. saatte KU oranı çalışmamızda daha yüksekti bu da çalışmamızın daha erken sonuç verdiğini göstermektedir. Pariona ve ark.'nın çalışmasından farklı olarak meropenemde yüksek BH oranı saptanması görece daha düşük izolat sayısından kaynaklanmış olabilir. Çalışmamızdaki izolat sayısı Martins ve ark.'nın çalışmasına benzer olması *K. pneumoniae* için 4. saatte benzer oranda BH gözlenmesi bunu desteklemektedir. Ancak Martins ve ark.'nın çalışmasında 8. saat yorumlanması ve seftazidim-avibaktam değerlendirilmesi yapılmamış. Martins ve ark.'nın ile Cherkaoui ve ark.'nın çalışmasına benzer şekilde 4. saatte en yüksek TBA oranı saptanmış olması, bu okuma saatinde *E. coli* için seftadazim yorumlanmasında güçlük olduğunu gösterir. Ancak bu kısıtlılık diğer okuma saatlerinde ortadan kalkmıştır. Ayrıca her ne kadar *E. coli* ve *K. pneumoniae* için çalışmamızın BH oranları FDA kriterlerini karşılamamış olsa da her iki

bakteri için sadece bir BH saptanması çalışmamızın uygulanabilirliğini tamamen etkilemeyeceğini, potansiyel klinik faydanın sağlanacağı düşünülmektedir.

Meropenem direnci çalışmamızda, *K. pneumoniae* izolatların %73'ünde, *E. coli* izolatlarının tamamı duyarlı saptandı. Her iki bakteri için tüm okuma saatlerinde meropenemde $KU \geq \%95$ hesaplandı. Shan ve ark'nın Çin'de gerçekleştirdiği ilk HADT yöntemi çalışmasında, 72 *K. pneumoniae* (meropenem direnci %65) ve 43 *E. coli* (meropenem direnci %44) izolatları değerlendirilmiş. 4 saatlik inkübasyon süresinin ardından oluşan inhibisyon zonlarının yetersiz bulunması nedeniyle yalnızca 6. ve 8. saat sonuçları dikkate alınmış. Ayrıca, seftazidim-avibaktam için potansiyel sınır değerleri tanımlanmış. *K. pneumoniae* ve *E. coli* için 6. ve 8. saatte $\geq \%98$ yorumlanabilen izolat sayısı gözlenmiş. Her iki bakteri için $KU \geq \%90$ gözlenmiş. TBA sonuçlarının çoğu *E. coli* için meropenem diskinde gözlenmiş. *K. pneumoniae*'de ve *E. coli*'de meropenemde BH ve ÇBH gözlenmemiş (59). KU oranımız benzer şekilde bulunmuştur. Shan ve ark'nın çalışmasından farklı olarak çalışmamızda 4. saatte okuma ve yorumlama gerçekleştirildi ve seftazidim diski değerlendirildi. Çalışmamızda bu çalışmadan farklı *K. pneumoniae*'de meropenem direnci daha yüksek saptanmış, *E. coli*'de daha düşük saptanmıştır. Direnç oranındaki bu farklılık coğrafi epidemiyolojik faktörlerden kaynaklanmış olabilir.

Bir *E. coli* izolatında gözlemlediğimiz, 8. saatteki okumada meropenemdeki bir BH'nin 4. ve 6. saatlerde TBA olarak yorumlanması, referans duyarlılıkta bu izolatın meropenem zon değerinin dirençli sınır değere yakın bir değerde olması dikkat çekici bir bulgudur. Benzer bir durumu *E. meningoseptica* izolatında da gözlemledik. Ek olarak, *S. maltophilia* ve diğer bazı *Enterobacterales* takım üyelerinde tüm okuma saatlerinde zon çapı 6 mm ölçüldü. Bu gözlemimiz dirençli izolatların büyük kısmında zon çaplarının hiç oluşmaması ya da oldukça küçük olması, hem EUCAST tarafından henüz belirlenmemiş izolatlar için hem de ÇİD patern gösteren izolatlar için tür düzeyinde tanımlama olmadan da kullanılabilmesini ancak sınır değere yakın olan izolatlar için ise yanlış dirençli (BH) veya TBA gibi yorumlama zorluklarına neden olabileceği için dikkatle değerlendirilmesi gerektiğini göstermekte.

Üçüncü kuşak sefalosporin veya karbapenem dirençli veya duyarlı izolatlarla literatürdeki diğer EUCAST HADT çalışmalarını incelediğimizde; Ekwall-Larson ve ark'nın *E. coli* (n=530) ve *K. pneumoniae* (n=112) izolatlarıyla yaptıkları çalışmada ise her ne kadar meropenem HADT için istenen standartları sağlamış olsa da meropenem dirençli ve karbapenemaz üreten *K.pneumoniae* izolatı olmaması nedeniyle EUCAST HADT

performansının tam değerlendirilemeyeceğini ve yüksek karbapenem direncine sahip merkezlerde de EUCAST HADT performansının değerlendirilmesi gerektiğini öne sürmüşler. (60). Strubbe ve ark'nın çalışmasında *E. coli* (meropenem dirençli, n=0) için seftazidimde bir ÇBH, bir KH meropenemde ise hata gözlenmemiş. *K. pneumoniae* (meropenem dirençli, n=0) için meropenemde herhangi bir hata gözlenmemiş ve sonuçlarının yorumlanırken ÇİD organizma prevalansı düşük izolatlar dahil edildiğinden sonuçlarının yorumlanırken dikkatli olunması gerektiği ve bu durum çalışmanın bir kısıtlılığı olarak belirtmişler (61).

Soo ve ark.'nın 2019 yılında 68 *E. coli* (seftazidim %24, meropenem %3 dirençli) 47 *K. pneumoniae* (seftazidim %46, meropenem %17 dirençli) ve 33 *P. aeruginosa* (seftazidim %51, meropenem %30 dirençli) izolatlarından oluşan HADT çalışmasında *E. coli* için 4. saatteki okumada seftazidimde, *K. pneumoniae* için 4. ve 6. saatteki okumada meropenemde BH oranının \geq %3 olması kaynaklı standartları sağlamadığı gözlenmiş. Karbapenemaz üreten *Enterobacterales* için meropenem HADT değerlendirmelerinin çoğu TBA veya dirençli olarak yorumlanmış. HADT yönteminin daha iyi değerlendirilmesi için özellikle dirençli izolatlarla daha fazla çalışma yapılması gerektiği belirtmişler (62).

Åkerlund ve ark'nın 55 laboratuvarın katılımıyla gerçekleştirdiği çalışmada Kuzey Avrupa'dan 68 (karbapenemaz üreten izolat n=0) ve Güney Avrupa'dan 66 (karbapenemaz üreten izolat n=25) *K. pneumoniae* izolatı çalışmaya dahil edilmiş. Çalışmanın ek veriler tablosunu incelendiğinde Güney Avrupa'daki izolatlarda Kuzey Avrupa'dan daha yüksek hata oranları saptanmış (49).

Yine Tayşi ve ark'nın başka bir çalışmasında GSBL (*K. pneumoniae*, n=8 ve *E. coli*, n=22) veya karbapenemaz (*K. pneumoniae*, n=13 ve *E. coli*, n=6) üreten izolatlar üzerinden yapmış olduğu çalışmada en yaygın KH *E. coli* için seftazidim, *K. pneumoniae* için ise meropenemle ilişkilendirilmiş (63). 2024 yılında Türkiye'den Özgen Top ve ark'nın çalışmasında 44 *E. coli* (karbapenem direnci %9), 38 *K. pneumoniae* (karbapenem direnci %53) ve 8 *P. aeruginosa* (karbapenem direnci %13) izolatlarını içeren çalışmada meropenemde 4. 6. ve 8. saatte sırasıyla BH %7,3; %4,4 ve %4,4 gözlenmiş (64).

Ekwall-Larson ve ark'nın, Strubbe ve ark'nın izolatlarının dirençli olmaması ve düşük hata oranı saptanması, diğer çalışmalarda ise karbapeneme dirençli izolatların yüksek olması ve daha yüksek hata oranı saptanması dikkat çekicidir. Çalışmamızda da *K. pneumoniae*'de ve *E. coli*'de benzer bir durum gözlenmesi direnç mekanizmalarından HADT sonuçlarının etkilenebileceğini göstermekte fakat bu hataların çok az sayıda izolatla gözlenmesi nedeniyle

daha önce de belirtildiği gibi potansiyel klinik etki üzerindeki olumsuz etkisinin sınırlı olacağını düşündürmekte. Sonuç olarak çalışmamızda elde edilen yüksek KU, EUCAST HADT yönteminin dirençli patojenler için de uygulanabileceğini desteklemektedir. Ek olarak, hem bizim çalışmamızda hem de Top ve ark.'nın çalışmasında bu çalışmalara göre daha yüksek oranda karbapenem direnci saptanması yıllar içinde karbapenem direnç artışının ciddiyetini göstermektedir. Bu da HADT çalışmamızın bir kez daha önemini ortaya koymakta.

Seftazidim-avibaktam HADT performansını incelediğimizde, *E. coli* için KU %100 hesaplandı ve tüm okuma saatlerinde herhangi bir hata saptanmadı. Dolayısıyla çalışmamızda yüksek bir performans gösterdi. *K. pneumoniae* için $KU \geq \%90$ hesaplandı fakat tüm okuma saatlerinde iki izolattan kaynaklı BH oranları FDA kriterlerini karşılamadı. Oksidaz negatifler için değerlendirdiğimizde, tüm okuma saatlerinde $\geq \%95$ KU'la yüksek performans gösterdi. BH (%3,1) ve ÇBH (%1,6) oranları FDA kriterlerini karşılamadı.

Bianco ve ark.'nın yaptığı metallo- β -laktamaz (MBL) enzimine sahip izolatları da içeren karbapenem dirençli *Enterobacterales* (KDE) bulunduğu toplam 246 izolattan oluşan 4, 6 ve 8 saatlik okumanın yapıldığı seftazidim-avibaktam HADT çalışmasında, okunabilen zon oranı sırasıyla %96,7; %100, %100, KU %99,1; %98,7 ve %98,7 ve TBA %3,8; %4,1 ve %4,1 gözlenmiş. BH 6. ve 8. saatlerde %0,6 ve ÇBH ise sırasıyla %2,6; %2,4 ve %2,4 gözlenmiş. Seftazidim-avibaktam dirençli alt kümesinde TBA oranı yüksek ve temel uyum oranı daha düşük saptanmış (65). Shan ve ark.'nın çalışmasında, seftazidim-avibaktamda TBA içinde kalan izolatlarda özellikle sınıf B direnç geni varlığı gösterilmiş, buradan yaptıkları çıkarımla TBA'da kalan izolatlar için hangi antimikrobiyal ajanın kullanılacağı konusunda dikkatli davranılması gerektiği sonucuna ulaşmışlar (59). Ayrıca intrensek MBL özelliği gösteren *E. meningoseptica* için de benzer bir durumu gözlemlediğimizi hatırlatmak isteriz.

Seftazidim-avibaktam, oksidaz negatif Gram-negatiflerde Bianco ve ark.'nın çalışmasına benzer olarak okunabilen zon okuma saatlerinde artış gösterdi fakat tamamı okunamadı. Tüm zonların tamamının okunamamasının nedeni *S. plymuthica* izolatının 8 saatlik inkübasyon boyunca üreme olmamasına bağlıydı. KU oranımız 4. 6. ve 8. saatteki okumalarda artış göstererek Bianco ve ark.'nın çalışmasıyla uyumlu bulundu ve bu çalışmayla yine uyumlu olarak KH herhangi bir saatte gözlenmedi. Seftazidim-avibaktamda, *K. pneumoniae* ve oksidaz negatif Gram-negatifler için FDA kriterlerini sağlamaması Bianco ve ark.'nın çalışmasına benzer olarak çalışmamızdaki seftazidim-avibaktam dirençli izolatların olmasına ve Shan ve ark.'nın çalışmasında TBA'ya neden olan *K. pneumoniae*'deki Sınıf B karbapenemazlar neden

olmuş olabilir. Gerçekten de BH'ye neden izolatlar (n=2) çok ilaca dirençli bir patern göstermiştir. Ayrıca bir ÇBH'ye neden olan *E. meningoseptica*'daki bu gözlemimiz de bunu destekler niteliktedir.

Seftazidim-avibaktamda iki BH ve bir ÇBH saptanmasına rağmen istenilen standartları sağlamamasına direnç mekanizmalarına ek olarak, düşük izolat sayımız da buna katkı sağlamış olabilir. Bu nedenle özellikle KDK infeksiyonlarının yüksek olduğu YBÜ gibi servislerde seftazidim-avibaktam için HADT yöntemi kullanılacak ise ihtiyatlı davranılması gerekmektedir.

Çalışmamızda piperasilin-tazobaktam, seftolozon-tazobaktam araştırılmamış olsa da, literatürdeki çalışmaların çoğunda piperasilin-tazobaktam EUCAST HADT yönteminde performansı düşük, hata oranları yüksek gözlenmiş (57, 61, 62, 66). Bianco ve ark.'nın çalışmasında ayrıca seftolozan-tazobaktam ve piperasilin-tazobaktam incelenmiş, her iki antimikrobiyal disk için *K. pneumoniae* izolatlarında ÇBH'ler gözlenmiş (15). Ayrıca bizim gözlemimizde de seftazidim-avibaktamda *K. pneumoniae*'nin yüksek BH orana sahip olması β -laktam/ β -laktamaz inhibitörleri için EUCAST HADT yönteminin performansının yeni çalışmalarla irdelenmesi gerektiğini düşündürmüştür.

Buna ek olarak *S. plymuthica*'nın 8 saatlik inkübasyonda ve *S. maltophilia*'nın da bazı saatlerinde üreme gözlenmemiş olması EUCAST HADT yönteminin neden her patojende uygulanamayacağını açıklayabilir. Ayrıca çalışmamızın büyük çoğunluğu oluşturan *E. coli* ve *K. pneumoniae* dışındaki izolatlarda daha geç üreme gözlenmesi, Gram-negatif üreme sinyali saptanan, 4. saatte üreme gözlenen ve oksidaz negatif izolatların büyük olasılıkla *E. coli* ve *K. pneumoniae* olabileceğini ve bu gözlemimiz nedeniyle de tür düzeyinde tanımlamanın her zaman gerekli olmadığını ve gelişmiş otomatik tanımlama sistemlerine sahip olmayan laboratuvarlarda HADT yöntemimizin kullanılabileceğini desteklemektedir.

P. aeruginosa için HADT yöntemimizde, meropenemde tüm okuma saatlerinde KU %100 hesaplandı ve herhangi bir hata saptanmadı. Meropenem için HADT yöntemimiz yüksek bir performans gösterdi. Seftazidim ve seftazidim-avibaktam için ise tüm okuma saatlerinde düşük KU ve yüksek BH oranları nedeniyle FDA standartlarını sağlamadı.

Lebreton ve ark. tarafından yapılan seftazidime ve karbapenemlere dirençli izolatların da olduğu 154 *P. aeruginosa* klinik izolatlarından oluşan çalışmada, karbapeneme dirençli izolatlarda seftazidim için BH oranı %9,7 olarak yüksek kalmış, ayrıca seftazidim-avibaktam için 8 saatlik inkübasyon sonrası bile seftazidime dirençli izolatlarda KU %82,3 BH %14,9 ve

karbapeneme dirençli izolatlarda KU %87,5; BH %8,2 olarak zayıf uyum göstermiş (67). Åkerlund ve ark. yaptığı çalışmada düşük sayıda seftazidim dirençli izolat (n=6) olsa da diğer antibiyotiklere kıyasla önemli sayıda BH hata gözlemlenmişler (49).

Ayrıca Bianco ve ark. tarafından çok merkezli yapılan çalışmada da seftazidime dirençli bir izolat olmasına rağmen önemli sayıda BH gözlemlenmiş ve seftazidim-avibaktam dirençli olmayan izolatlar (n=23) değerlendirilmiş (15). Cherkaoui ve ark'nın 129 *P. aeruginosa* izolatıyla yaptığı çalışmada seftazidimde (6. ve 8. okuma saatlerinde sırasıyla BH %4,7; %3,1 ve ÇBH %1,6; %0,8) yüksek hata oranı ve meropenemde yüksek KU (%98,4-%99,2), üç BH gözlenmiş ve ÇBH gözlenmemiş (58). Soo ve ark'nın, seftazidim ve meropenem dirençli izolatlarını içeren 33 *P. aeruginosa* çalışmasında seftazidimde bir BH saptanmış, meropenem de ise BH veya ÇBH saptanmamış. (62)

Çalışmamızda seftazidim (%40) ve meropenem (%30) direnç oranları, Lebreton ve ark. ve Soo ve ark'nın çalışmalarında da bildirilen yüksek direnç oranlarıyla benzerlik göstermekte. Bu durum, *P. aeruginosa*'daki yüksek direnç oranlarının ve farklı direnç paternlerinin yaygın bir sorun olduğunu göstermekte. Bu da erken uygun antimikrobiyal tedavinin hızlı bir şekilde başlanmasının önemini bir kez daha ön plana çıkarmaktadır.

Meropenemdeki yüksek HADT performansımız Cherkaoui ve ark'nın ile Soo ve ark'nın çalışmalarında bildirilen meropenem sonuçlarıyla benzerlik gösterdi. Meropenemdeki bu benzerlik yöntemin güvenle kullanılabilirliğini desteklemektedir.

Seftazidimde elde ettiğimiz düşük KU ve yüksek BH oranları, Lebreton ve ark'nın, Åkerlund ve ark'nın, Cherkaoui ve ark'nın ve Soo ve ark'nın çalışmalarındaki seftazidim düşük performansıyla benzerlik gösterdi. Bu bulgular seftazidimin *P. aeruginosa*'da dikkatli yorumlanması gerektiğini düşündürmektedir.

Seftazidim ve seftazidim-avibaktamda FDA standartlarını sağlamama nedenimiz ise, düşük izolat sayısına (n=10) ek olarak hem *P. aeruginosa*'daki farklı direnç paternlerinden hem de çalışmamızın dirençli izolatları içermesinden kaynaklanmış olabilir. Lebreton ve ark çalışmasındaki yüksek sayıda izolat içermesine rağmen, dirençli izolatlardaki seftazidim, seftazidim-avibaktamdaki düşük performans bunu destekler nitelikte.

P. aeruginosa, çalışmamızda seftazidim ve seftazidim-avibaktamda düşük performans göstermiş olsa da, Gram-negatif bakteriyeminin ampirik tedavisinde sıkça kullanılan meropenemde yüksek performans elde etmemiz, karbapenem direncini erken saptayarak

tedavinin hızla yönlendirilmesine (ör. erken eskalasyon) olanak sağlayacaktır. Dolayısıyla seftazidim ve seftazidim-avibaktamdaki düşük performansı, potansiyel klinik üzerindeki etkisinin kısıtlı olacağını düşünülmektedir.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları vardı; ilk olarak HADT'ın klinisyen üzerindeki etkisinin irdelenmemiş olması nedeniyle mortalite oranları gibi gerçek klinik üzerindeki etkisinin belirsiz olması, ikinci olarak HADT okumalarının tek kişi tarafından (araştırmacının kendisi) yapılmış olmasından dolayı özellikle erken saatlerde gözlenen keskin olmayan zon kenarlarının farklı yorumlanabilme olasılığı ve son olarak diğer çalışmalara göre daha az izolat içermesi nedeniyle hata oranlarının görece yüksek saptanması.

EUCAST HADT uygulamasının kendisinden kaynaklı kısıtlılıklar da vardı; polimikrobiyal KDI'larında ve yavaş büyüyen mikroorganizmlarda kullanılamaması, ikinci olarak okumaların 2 saatlik aralarla yapılması gerektiğinden yoğun teknik emek gerektirmesi.



6. SONUÇ

Bu çalışma, oksidaz testi gibi hızlı, basit ve ucuz tanımlama testleri ve yeniden düzenlenmiş sınır değer tablosu kullanılarak 4-8 saatlik inkübasyon sonrası gelişmiş otomatize tanımlama sistemlerine sahip olmayan laboratuvarlarda bile HADT yönteminin oksidaz negatif Gram-negatif çomaklarda üçüncü kuşak sefalosporin ve karbapenem direnci sonucu hakkında güvenilir sonuçlar elde edebileceğini ortaya koymuştur. Bu yüksek performans, üçüncü kuşak sefalosporin ve karbapenem direncinin erken saptanmasına hem tedavinin erken yönetimine hem de erken temas izolasyonu önlemlerinin alınmasına olanak sağlayacaktır. Çalışma aynı

zamanda, EUCAST HADT tablosunda yer almayan *Enterobacterales* takımı için de yorumlanabileceğini ve bu bakteriler için de HADT sınır değer geliştirilebileceğini göstermiştir.

Bu yüksek performans, *P. aeruginosa* için meropenemde de devam etmesine rağmen seftazidim ve seftazidim-avibaktam için kabul edilebilir ölçütlerin altında kalması deeskalasyon tedavisinin uygulanmasını sınırlayabilir.

Çalışmamız, EUCAST HADT yönteminin uygulanmasının ve kontrolünün karmaşık olmadığını ortaya koymuştur. Ayrıca bu yöntemin ek özel ekipman ve malzeme gerektirmeksizin, pahalı cihazlar olmadan da standart mikrobiyoloji laboratuvarlarında sadece iş akışı değiştirerek kolaylıkla uygulanabileceğini göstermiştir. Pozitif sinyal saptandıktan 4-8 saat sonra tedaviyi yönlendiren seftazidim, seftazidim-avibaktam ve meropenem için duyarlılık sonucu hakkında yorum elde edilebileceğinden ertesi güne beklemenin zorunluluğunu ortadan kaldırmıştır. Bu nedenle gün içerisinde tedavi seçiminde klinisyene yol gösterebileceği, her merkezin kendi direnç profiline göre tüm antimikrobiyal ajanlara uygulanmadan sadece tedaviyi yönlendiren antimikrobiyal ajanlara göre yöntemin uygulanabileceği ve sonuç olarak başarılı bir antimikrobiyal yönetimine yardımcı olacağı aşıkardir ancak yine de sonuçların dikkatli bir şekilde yorumlanması gerekir.

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU

7. KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Global report on the epidemiology and burden of sepsis: current evidence, identifying gaps and future directions [Internet]. World Health Organization; 2020 [a.yer 23 Kasım 2024]. s. 55 p. Erişim adresi: <https://iris.who.int/handle/10665/334216>
2. Cecconi M, Evans L, Levy M, Rhodes A. Sepsis and septic shock. *The Lancet*. 2018;392(10141):75-87.
3. Kern WV, Rieg S. Burden of bacterial bloodstream infection—a brief update on epidemiology and significance of multidrug-resistant pathogens. *Clinical Microbiology and Infection*. 2020;26(2):151-7.
4. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest*. 2009;136(5):1237-48.
5. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. 2006;34(6):1589-96.
6. Yonetani S, Ohnishi H, Ohkusu K, Matsumoto T, Watanabe T. Direct identification of microorganisms from positive blood cultures by MALDI-TOF MS using an in-house saponin method. *International Journal of Infectious Diseases*. 2016;52:37-42.
7. Prod'hom G, Durussel C, Greub G. A simple blood-culture bacterial pellet preparation for faster accurate direct bacterial identification and antibiotic susceptibility testing with the VITEK 2 system. *J Med Microbiol*. 2013;62(5):773-7.
8. Vardakas KZ, Anifantaki FI, Trigkidis KK, Falagas ME. Rapid molecular diagnostic tests in patients with bacteremia: evaluation of their impact on decision making and clinical outcomes. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2015;34(11):2149-60.
9. Methodology - EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood culture bottles Version 6.0 [Internet]. 2025 [a.yer 10 Nisan 2025]. Erişim adresi: <https://www.eucast.org/>
10. Meyer NJ, Prescott HC. Sepsis and septic shock. *New England Journal of Medicine*. 2024;391(22):2133-46.
11. Smith-Elekes S, Weinstein MP. Blood cultures. *Infect Dis Clin North Am*. 1993;7(2):221-34.

12. Mirrett S, Reller LB, Petti CA, Woods CW, Vazirani B, Sivadas R, et al. Controlled clinical comparison of BacT/ALERT standard aerobic medium with BACTEC standard aerobic medium for culturing blood. *J Clin Microbiol.* 2003;41(6):2391-4.
13. Huang AH, Yan JJ, Wu JJ. Comparison of five days versus seven days of incubation for detection of positive blood cultures by the BACTEC 9240 system. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.* 1998;17(9):637-41.
14. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clinical Microbiology and Infection.* 2013;19(6):501-9.
15. Bianco G, Lombardo D, Ricciardelli G, Boattini M, Comini S, Cavallo R, et al. Multicentre evaluation of the EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) extending analysis to 16–20 hours reading time. *Antibiotics.* 2022;11(10):1404.
16. Franco-Paredes C. Bloodstream infections. İçinde: *Core concepts in clinical infectious diseases (CCCID).* Elsevier; 2016. s. 9-15.
17. Al Mohajer M, Darouiche RO. Sepsis syndrome, bloodstream infections, and device-related infections. *Medical Clinics of North America.* 2012;96(6):1203-23.
18. Coburn B, Morris AM, Tomlinson G, Detsky AS. Does this adult patient with suspected bacteremia require blood cultures? *JAMA.* 2012;308(5):502.
19. Holmes CL, Anderson MT, Mobley HLT, Bachman MA. Pathogenesis of Gram-negative bacteremia. *Clin Microbiol Rev.* 2021;34(2).
20. Benkova M, Soukup O, Marek J. Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *J Appl Microbiol.* 2020;129(4):806-22.
21. Matuschek E, Brown DFJ, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection.* 2014;20(4):O255-66.
22. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases.* 2009;49(11):1749-55.
23. Arbefeville SS, Timbrook TT, Garner CD. Evolving strategies in microbe identification—a comprehensive review of biochemical, MALDI-TOF MS and molecular testing methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2024;79(Supplement_1):i2-8.

24. Coyle MB, McGonagle LA, Plorde JJ, Clausen CR, Schoenknecht FD. Rapid antimicrobial susceptibility testing of isolates from blood cultures by direct inoculation and early reading of disk diffusion tests. *J Clin Microbiol.* 1984;20(3):473-7.
25. Chandrasekaran S, Abbott A, Campeau S, Zimmer BL, Weinstein M, Thrupp L, et al. Direct-from-blood-culture disk diffusion to determine antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacteria: preliminary report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *J Clin Microbiol.* 2018;56(3).
26. Weme ET. Rapid antimicrobial susceptibility testing of positive blood cultures by direct inoculation and reading of disc diffusion tests after 3–4 hours. *APMIS.* 2018;126(11):870-6.
27. Kahlmeter G, Giske CG, Kirn TJ, Sharp SE. Point-Counterpoint: Differences between the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing and Clinical and Laboratory Standards Institute Recommendations for Reporting Antimicrobial Susceptibility Results. *J Clin Microbiol.* 2019;57(9).
28. Screening for ESBL and carbapenemases in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella enterica* for epidemiological purposes as part of the RAST procedure. [Internet]. 2025 [a.yer 10 Nisan 2025]. Erişim adresi: <https://www.eucast.org/>
29. Garcia LS. Biochemical tests for the identification of aerobic bacteria. İçinde: *Clinical microbiology procedures handbook*. Church DL. Washington, DC, USA: ASM Press; 2016. s. 3.17.39.1-3.17.39.3.
30. Barenfanger J, Graham DR, Kolluri L, Sangwan G, Lawhorn J, Drake CA, et al. Decreased mortality associated with prompt Gram staining of blood cultures. *Am J Clin Pathol.* 2008;130(6):870-6.
31. Søgaaard M, Nørgaard M, Schönheyder HC. First notification of positive blood cultures and the high accuracy of the Gram stain report. *J Clin Microbiol.* 2007;45(4):1113-7.
32. Erdem G, Leber A. Less commonly encountered nonenteric Gram-negative bacilli. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases.* 2023;874-877.e3.
33. Lepak A, Andes DR. Cephalosporins. İçinde: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editörler. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.* 9. bs Philadelphia: Elsevier; 2019. s. 268-284.e6.
34. Husna A, Rahman M, Badruzzaman ATM, Sikder MH, Islam MR, Rahman T, et al. Extended-spectrum β -lactamases (ESBL): challenges and opportunities. *Biomedicines.* 2023;11(11):2937.

35. Park SH. Third-generation cephalosporin resistance in Gram-negative bacteria in the community: a growing public health concern. *Korean J Intern Med.* 2014;29(1):27.
36. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):969-76.
37. Jacoby GA. AmpC β -lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22(1):161-82.
38. Tamma PD, Doi Y, Bonomo RA, Johnson JK, Simner PJ. A primer on AmpC β -lactamases: necessary knowledge for an increasingly multidrug-resistant world. *Clinical Infectious Diseases.* 2019;69(8):1446-55.
39. Doi Y. Ertapenem, Imipenem, Meropenem, Doripenem, and Aztreonam. İçinde: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editörler. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.* 9. bs Philadelphia: Elsevier; 2019. s. 285-290.e3.
40. Shirley M. Ceftazidime-avibactam: a review in the treatment of serious Gram-negative bacterial infections. *Drugs.* 2018;78(6):675-92.
41. FDA US. Class II special controls guidance document: antimicrobial susceptibility test (AST) systems; guidance for industry and FDA. Rockville, MD: US FDA; 2003.
42. ISO 20776-1:2019. Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. Part 1: Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.
43. Clark RB, Lewinski MA, Loeffelholz MJ, Tibbetts RJ. Cumitech 31A, verification and validation of procedures in the clinical microbiology laboratory. Washington, DC: ASM Press; 2009.
44. Idelevich EA, Becker K. How to accelerate antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology and Infection.* 2019;25(11):1347-55.
45. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis.* 2019;19(1):56-66.
46. Zilberberg MD, Shorr AF, Micek ST, Vazquez-Guillamet C, Kollef MH. Multi-drug resistance, inappropriate initial antibiotic therapy and mortality in Gram-negative severe sepsis and septic shock: a retrospective cohort study. *Crit Care.* 2014;18(6):596.
47. Karlowsky JA, Jones ME, Draghi DC, Thornsberry C, Sahm DF, Volturo GA. Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of

- hospitalized patients in the United States in 2002. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2004;3(1):7.
48. Périllaud C, Pilmis B, Diep J, Péan de Ponfilly G, Vidal B, Couzigou C, et al. Prospective evaluation of rapid antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion on Mueller-Hinton rapid-SIR directly on blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2019;93(1):14-21.
 49. Åkerlund A, Jonasson E, Matuschek E, Serrander L, Sundqvist M, Kahlmeter G, et al. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) in blood cultures: Validation in 55 European laboratories. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2020;75(11):3230-8.
 50. van den Bijllaardt W, Buiting AG, Mouton JW, Muller AE. Shortening the incubation time for antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion for Enterobacteriaceae: how short can it be and are the results accurate? *Int J Antimicrob Agents.* 2017;49(5):631-7.
 51. MacGowan A, Grier S, Stoddart M, Reynolds R, Rogers C, Pike K, et al. Impact of rapid microbial identification on clinical outcomes in bloodstream infection: the RAPIDO randomized trial. *Clinical Microbiology and Infection.* 2020;26(10):1347-54.
 52. Mancini S, Bodendoerfer E, Kolensnik-Goldmann N, Herren S, Röthlin K, Courvalin P, et al. Evaluation of standardized automated rapid antimicrobial susceptibility testing of Enterobacterales-containing blood cultures: a proof-of-principle study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2020;75(11):3218-29.
 53. Herroelen PH, Heestermans R, Emmerechts K, Vandoorslaer K, Wybo I, Piérard D, et al. Validation of rapid antimicrobial susceptibility testing directly from blood cultures using WASPLab®, including Colibri™ and Radian® in-Line Carousel. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2022;41(5):733-9.
 54. Thomson GK, Jamros K, Snyder JW, Thomson KS. Digital imaging for reading of direct rapid antibiotic susceptibility tests from positive blood cultures. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2021;40(10):2105-12.
 55. Tayşi MR, Şentürk GÇ, Çalışkan E, Öcal D, Miroglu G, Şencan İ. Implementation of the EUCAST rapid antimicrobial susceptibility test (RAST) directly from positive blood culture bottles without the advanced identification systems. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2022;77(4):1020-6.
 56. Pariona JGM, Oliveira FA, Scoton PH, Barrón-Pastor HJ, Pariona EMM, Zaccariotto TR, et al. Rapid diagnostic of multidrug-resistant sepsis pathogens directly from blood

- culture bottles using MALDI-TOF and the EUCAST RAST. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2024;109(2).
57. Martins A, Wink P, Pereira D, Souza A, Aquino V, Barth A. Rapid antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae by disk diffusion directly from blood culture bottles using the EUCAST RAST breakpoints. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020;22:637-42.
 58. Cherkaoui A, Schorderet D, Azam N, Crudeli L, Fernandez J, Renzi G, et al. Fully automated EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) from positive blood cultures: diagnostic accuracy and implementation. *J Clin Microbiol*. 2022;60(10).
 59. Shan Y, Hu B, Guo W, Wang B, Zhou C, Huang S, et al. Evaluation of the EUCAST Rapid Antimicrobial Susceptibility Test for Enterobacterales-Containing Blood Cultures in China. *J Clin Microbiol*. 2022;60(4).
 60. Ekwall-Larson A, Fröding I, Mert B, Åkerlund A, Özenci V. Analytical performance and potential clinical utility of EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing in blood cultures after four hours of incubation. *Microbiol Spectr*. 2023;11(2).
 61. Strubbe G, Messiaen AS, Vandendriessche S, Verhasselt B, Boelens J. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) compared to conventional susceptibility testing: implementation and potential added value in a tertiary hospital in Belgium. *Acta Clinica Belgica: International Journal of Clinical and Laboratory Medicine*. 2023;78(5):385-91.
 62. Soo YT, Waled SNMB, Ng S, Peh YH, Chew KL. Evaluation of EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2020;39(5):993-8.
 63. Tayşi MR, Öcal D, Çiçek Şentürk G, Çalışkan E, Çelik B, Şencan I. Implementation of the EUCAST rapid antimicrobial susceptibility test (RAST) for carbapenemase/ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates, and its effect on mortality. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2024;79(7):1540-6.
 64. Özgen Top Ö, Çifci B, Büyükkörük M, Can H, Aysert Yıldız P, Marlı HF, et al. Impact of EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) on optimal antimicrobial therapy in Gram-negative bloodstream infections. *Infect Dis Now*. 2024;54(8):105007.
 65. Bianco G, Boattini M, Comini S, Iannaccone M, Cavallo R, Costa C. Rapid determination of ceftazidime/avibactam susceptibility of carbapenemase-producing Enterobacterales directly from blood cultures: a comparative evaluation of EUCAST disc diffusion RAST and direct Etest®RAST. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2022;77(6):1670-5.

66. Kansak N, Adaleti R, Nakipoglu Y, Aksaray S. Evaluation of the performance of rapid antibiotic susceptibility test results using the disk diffusion directly from the positive blood culture bottles. *Indian J Med Microbiol.* 2021;39(4):484-8.
67. Lebreton C, Fournier D, Jeannot K. Evaluation of EUCAST rapid antimicrobial susceptibility test directly from positive blood culture for *Pseudomonas aeruginosa*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.* 2024;43(10):2061-4.

