



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE  
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SEPSİS TANISINDA  
MOLEKÜLERYÖNTEMLERİN  
KONVANSİYONEL YÖNTEMLER İLE  
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYŞE ÜNAL EŞİYOK

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Serkan ÖNCÜ

**AYDIN - 2016**

T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE  
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SEPSİS TANISINDA  
MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN  
KONVANSİYONEL YÖNTEMLER İLE  
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYŞE ÜNAL EŞİYOK

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Serkan ÖNCÜ

**AYDIN - 2016**

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **TPF-12005** numaralı proje olarak desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana bilgi ve tecrübelerinden yararlanma olanağı veren, mesleki becerilerimin olgunlaşmasında büyük katkısı bulunan, hastalara ve hayata daha geniş bakış açısıyla bakmamı sağlayan, bilimsel düşüncenin nasıl olması gerektiği hususunda bana çok şey katan, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, yeri geldiğinde hocalık, yeri geldiğinde de gerçek birer arkadaşlık yapan, her seferinde iyi ki yolum buradan geçmiş ve onları tanımışım dediğim değerli hocalarım olan; başta tez danışmanlığımı üstlenen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Serkan ÖNCÜ olmak üzere; Sayın Prof.Dr. Serhan SAKARYA, Sayın Doç. Dr. Mustafa Bülent ERTUĞRUL, Sayın Yrd.Doç.Dr. Şerife Barçın ÖZTÜRK ve Sayın Yrd.Doç.Dr.Güliz Uyar GÜLEÇ'e;

Tezim vesilesiyle kendisini tanıma ve birlikte çalışma fırsatı bulduğum için kendimi şanslı hissettiğim, bilgi ve birikimlerinden yararlandığım Sayın Prof.Dr.Bülent BOZDOĞAN'a;

Bu uzun ve yorucu süreçte birlikte çalışmaktan büyük zevk duyduğum, hayatıma anlam katan, mutluluğumu, sevincimi, üzüntümü paylaşan çok sevdiğim asistan arkadaşlarım;Dr. Pelin Gencer ORUÇ, Dr. Çetin TURAN,Dr. Meryem Özlem ERSOY, Dr. Ayşe Şadiye SERT, Dr. Esra ÇÖREKLİ, Dr. Fatma Merve KAYA'ya;

Laboratuvarı varlıklarıyla güzelleştiren, yükümü hafifleten, değerli arkadaşlarım; Didem YILMAZ, Bilgen ÖZSOYDAŞ, Şehribanu AKTEPE'ye;

Mesleğimi güzelleştiren, her zaman desteklerini gördüğüm, birlikte iyi ve huzurlu bir ekip çalışması ruhunu hissettiğim, burada çalışma sürecimde beraber olma fırsatını bulduğum tüm hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma;

Doğduğum günden itibaren beni gözünden sakınan, her zaman hayırlı ve çalışkan bir evlat olmam için durmadan çaba sarfeden, hayatımın her aşamasında maddi manevi desteğini hiç esirgemeyen, ailem oldukları için kendimi çok şanslı hissettiğim, haklarını asla ödeyemeceğim, her daim iyi ki varlar dediğim, çok sevdiğim canım annem Gülgün ÜNAL ve canım babam Osman ÜNAL'a;

İkinci ailem olan beni kendi evlatlarından ayırmayan, asistanlık sürecimin bütün güzel ve zorlu anlarını benimle paylaşan, desteklerini hiç esirgemeyen fedakâr kayınvalidem Hanım EŞİYOK'a ve kayınpederim Osman EŞİYOK'a

Yanında her zaman huzur bulduğum, her daim desteğini ve sevgisini hissettiğim, canım, kıymetlim, biricik eşim Erkan EŞİYOK'a;

Varlıkları ile hayatımın her anını güzelleştiren, yaşam kaynağım, gözümün nurları, canparelerim, biricik evlatlarım; Osman Ege ve Ünal Ediz'ime;  
Sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Ayşe ÜNAL EŞİYOK

Ocak 2016; AYDIN

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	
İÇİNDEKİLER.....	
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	
TABLO DİZİNİ .....	
ŞEKİL DİZİNİ.....	
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	
2.GENEL BİLGİLER.....	
2.1.Sepsis ve Sepsis Tanısında Kullanılan Tanımlar.....	
2.2. Tarihçe.....	
2.3. Fizyopatogenez.....	
2.4. Epidemiyoloji.....	
2.5. Prognoz .....	
2.6. Etiyoloji.....	
2.7. Enfeksiyon Bölgesi.....	
2.8. Tanı.....	
2.8.1. Non-Spesifik Testler.....	
2.8.1.1. Hemotolojik Testler.....	
2.8.1.2. Biyokimyasal Testler.....	
2.8.1.3. İnflamasyon Belirleyicileri.....	
2.8.1.3.1. C-reaktif Protein.....	
2.8.1.3.2. Prokalsitonin.....	
2.8.2 Spesifik Testler.....	
2.8.2.1. Kan Kültürleri .....	
2.8.2.2.Moleküler Yöntemler.....	
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	
3.1. Hastaların Belirlenmesi.....	
3.2. Hastalarla İlgili Bilgilerin Toplanması .....	
3.3. Örneklerin Alınması.....	

3.4. Kan Kültürü .....	
3.5. 16S rRNA Amplifikasyonu.....	
3.5.1. DNA ekstraksiyonu.....	
3.5.2. PCR İçin Kullanılan Primerler.....	
3.5.3. Reaksiyon Master Miksinin Hazırlanması.....	
3.5.4. ITS Bölge Amplifikasyonu.....	
4.BULGULAR.....	
5.TARTIŞMA.....	
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	
7.ÖZET.....	
8.İNGİLİZCE İSİM VE ÖZET.....	
9.KAYNAKLAR.....	

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ABD: Amerika Birleşik Devletleri  
ADÜ: Adnan Menderes Üniversitesi  
ACCP: Amerikan Göğüs Hastalıkları Derneği  
aPTT: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı  
ATP: Adenozin trifosfat  
BUN: Kan üre nitrojeni  
CDC: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi  
cGMP: Siklik guanozin monofosfat  
CI: Güven aralığı DIC: Dissemine intravasküler koagülasyon  
CRP: C-reaktif protein  
EPIC II: European prevalence of infection in intensive care  
FiO<sub>2</sub>: İnspiratuar oksijen fraksiyonu  
G-CSF: Granülosit koloni stimulan faktör  
GKS: Glasgow koma skoru  
HIV: İnsan immün yetmezlik virüsü  
HMGB1: High mobility group box 1  
IL-6: İnterlökin 6  
IL-10: İnterlökin 10  
INR: İnternasyonal normalize edilmiş oran  
IRAK: İnterleukin 1 receptor associated kinase  
iNOS: İnducible nitric oxide synthase  
KNS: Koagülaz negatif stafilokok  
LPS: Lipopolisakkarit  
MIF: Macrophage migration inhibitory factor  
MODS: Multipl organ disfonksiyon sendromu  
MÖ: Milattan önce  
MRSA: Metisilin dirençli *Stafilococcus Aureus*  
MS: Milattan sonra  
MSSA: Metisilin duyarlı *Stafilococcus aureus*  
MSKNS: Metisilin duyarlı koagülaz negatif stafilokok  
MyD: Myeloid differentiation IL-1: İnterlökin 1

NFkB:Nuclear factor kappaB  
NO:Nitric oxide  
NOD:Nucleotid oligomerization domain protein  
OR: Olasılık oranı  
OAB: Ortalama arter basıncı  
PaO2: Parsiyel arteryel oksijen basıncı  
PCR:Polimeraz zincir reaksiyonu  
PCT: Prokalsitonin  
SCCM:Yoğun Bakım Derneği  
SD: Standart sapma  
SIRS:Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu  
SvO2: Mikst venöz oksijen saturasyonu  
SVK: Santral vasküler kateter  
TAK:TRAF-associated kinase  
TIR: Toll/interlökin 1 reseptörü  
TLR: Toll-like receptor  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktör  $\alpha$   
TRAF:Tumour necrosis factor receptor associated factor  
YBÜ: Yoğun bakım üniteleri

## TABLO DİZİNİ

- Tablo I. Sepsis Tanı Kriterleri
- Tablo II. Organ Yetmezliği Tanımları
- Tablo III. Konak savunma mekanizmaları
- Tablo IV. Sepsis için risk faktörleri
- Tablo V. Kültür pozitif infekte hastalardaki mikroorganizma tipleri ve hastane mortalitesi ile ilişkisi
- Tablo VI. Ağır sepsisli hastalarda cinsiyete göre en sık rastlanan infeksiyon bölgeleri ve ilişkili kaba mortalite oranları
- Tablo VII. Sepsise benzer klinik tablo oluşturan enfeksiyon dışı durumlar
- Tablo VIII. Çalışmada kullanılacak primer listesi
- Tablo IX. Kan kültürü alınan hastaların kliniklere göre dağılımı
- Tablo X. Eşlik eden komorbid hastalıklar
- Tablo XI. Hastalardan alınan kan kültürlerinde üreme oranları
- Tablo XII. Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların dağılımı
- Tablo XIII. Etkenlere göre dağılım
- Tablo XIV. Kan kültüründe üremeye göre CRP (T-test)
- Tablo XV. Kan kültüründe üremeye göre PCT (T-test)
- Tablo XVI. Yoğun bakımda takipli hastaların Apache II skorları
- Tablo XVII. SeptiFast ile yapılan bazı çalışmalarda kan kültürü ve PCR pozitiflik oranları
- Tablo XVIII. SeptiFast kullanılarak yapılan bazı çalışmalardaki kan kültürü ve PCR pozitifliğinin karşılaştırması

## **ŞEKİL DİZİNİ**

Şekil 1. 1992 ACCP/SCCM uzlaŐı konferans tanımları

Şekil 2. Etken olan patojenlere göre ABD'deki sepsis olguları

Şekil 3. 16S rRNA sekans analizi ile Gen Bankası karşılaştırma yöntemi ile tür tanılama

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis, bir çok sistemi tutan, özellikle hemodinamik değişikliklere yol açabilen, şok, organ fonksiyon bozukluğu ve yetmezliğine kadar gidebilen öldürücü bir enfeksiyon hastalığıdır. Tüm tıbbi gelişmelere karşın sepsis halen yüksek mortalite ile seyreden bir klinik tablodur(1).

Ülkemizle ilgili genel bir insidans ve ölüm oranı vermek mümkün olmasa da, hastanede yatan hastalarda, özellikle yoğun bakım ünitelerinde(YBÜ), sepsis önemli bir enfeksiyon sorunudur. Günümüzde sepsisin moleküler düzeydeki patofizyolojisi daha iyi bilinmektedir, tedavide daha agresif yaklaşımlar kullanılmaktadır. Fakat yine de dirençli mikroorganizmaların artışı; YBÜ’de enfeksiyonların sıkça görülmesi; radyoterapi, kemoterapi ve transplantasyon nedeniyle immünsüprese hasta sayısının artması sepsis insidansının ve mortalitesinin hızla artmasına neden olmaktadır (2).

Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ‘nde ölüm nedenleri arasında 13. sırada, koroner yoğun bakım ünitesi dışındaki YBÜ’ lerinde ise ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır(1).

Erken tanı ve tedavi prognozu olumlu yönde belirleyen en önemli etmenddir. Sepsisinin başlangıç dönemindeki özgün olmayan bulgular gereksiz veya gecikmiş antibiyotik kullanımına neden olabilmektedir. Etkeni belirleme konusunda günümüzde en sık kullanılan test kan kültürüdür; ancak etkinliği istenilen düzeylerde değildir. Hem tüm hastalarda kültürde üreme sağlanamamakta, hem de sonuçlar en az 48 saat sonra eldeedilebilmektedir. Kan kültürü sonuçlarının erken alınamaması; bu süre içerisinde enfeksiyona bağlı Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu (SIRS) geliştiği düşünülen hastaların diğer nonenfeksiyöz sebeplerden ayırımının yapılamaması konusunda önemli tanısal sorunlar yaşanmaktadır.

Moleküler tetkikler bu konuda geleceği olan uygulamalardır. Bu çalışmada moleküler yöntemlerden polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yönteminin, sepsis tanısındaki etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Nisan 2014 tarihinden itibaren Adnan Menderes Üniversitesi(ADÜ) Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi’ne yatışı yapılan sepsis ön tanılı hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalardan alınan kan örnekleri mikroorganizmayı saptamak için kan kültürü ve PCR yöntemi ile araştırılmıştır. Sonuçlar karşılaştırılmalı olarak analiz edilip, PCR yönteminin değeri ve uygulanabilirliği ortaya konulmaya çalışılmıştır.

## 2) GENEL BİLGİLER

Sepsis patojenlerle kişinin immün sistemi arasında ölümüne bir yarış olarak kabul edilebilir(3). Önemli bir halk sağlığı sorunudur ve YBÜ'ne yatışın en sık nedenlerinden biridir. Sepsise bağlı mortalite sağlık bakımındaki tüm gelişmelere karşın halen yüksektir ve koroner YBÜ dışındaki hastalarda ölümlerin ikinci önde gelen nedenidir(4, 5).

Sepsis ve benzeri klinik tablolar için tanımlama ve derecelendirme yapmak zordur. 1991 yılında sepsisin tanımlanması, izlemi ve tedavisinde belli kriterlerin oluşturulması için, Amerikan Göğüs Hastalıkları Derneği (ACCP) ve Yoğun Bakım Derneği'nin (SCCM) katılımıyla toplantı gerçekleştirilmiştir. Bu toplantıda sepsis fizyopatolojisini daha iyi anlayabilmek ve tedavisinde belirgin gelişmeler sağlayabilmek için yapılandırılmış bir araştırma takvimi oluşturulması kararlaştırılmıştır. Toplantı 1992 yılında tekrarlanmış ve "SIRS", "Sepsis", "Ağır Sepsis" ve "Septik Şok" terimleri tıp literatüründe kullanılmaya başlanmıştır(6). Nedene bakılmaksızın vücutta oluşan bağışıklık tetiklenmesini tanımlayan SIRS birçok nedene bağlı olarak gelişmektedir. Travma, yanık veya akut pankreatit gibi steril inflamatuvar hastalıklar ve lokalize veya yaygın enfeksiyonlar SIRS nedeni olabilir(7). 1992 yılında tanımlanmış kriterlerin SIRS değerlendirmesinde son derece nonspesifik kriterler olması ve patofizyolojideki yeni gelişmelerle birlikte tanımlamaların yetersiz kalmasından dolayı 2001 yılında daha geniş bir topluluk ile Uluslararası Sepsis Tanımları Konferansı düzenlenmiştir. Bu toplantıda sepsis ve benzeri tabloların tanımlarının gözden geçirilmesi, yeni tanımlamaları geliştirmenin yollarının aranması ve sepsis tanısının doğru ve etkin konması yollarının araştırılması amaç edinilmiştir. Sonuçta 1992 yılında yapılan tanımlamalar geçerli kalmıştır, fakat daha iyi tanı ve sınıflandırma oluşturabilmek için hastalık tanımına bir takım eklemeler yapılmıştır(8). En son ise 2005 yılında tekrar düzenlemeler yapılmıştır. Sepsis tanısı açısından en son kullanılan ortak parametreler ortaya konulmuştur (9). En yeni sepsis tanı kriterleri Tablo I 'de belirtilmiştir(7).

**Tablo I:** Sepsis Tanı Kriterleri(7)

<i>Sepsis Tanı Kriterleri</i>
<b>Genel Kriterler:</b>
a. Ateş (> 38,3°C)
b. Hipotermi (< 36°C)

- c. Kalp hızı > 90/dakika veya > 2 SD (yaşa göre)
- d. Takipne
- e. Bilinç değişiklikleri, belirgin ödem veya pozitif sıvı dengesi (24 saatte > 20 mL/kg)
- f. Hiperglisemi (diyabeti olmayan bir hastada plazma glikoz düzeyi > 120 mg/dL veya 7,7 mmol/L)

#### ***İnflamasyon Belirteçleri***

- a. Lökositoz (Lökosit sayısı > 12,000/mm<sup>3</sup>)
- b. Lökopeni (Lökosit sayısı < 4000/mm<sup>3</sup>)
- c. Normal lökosit sayısı ve immatür formlarının %10'dan fazla olması
- d. Plazma C-reaktif protein > 2 SD
- e. Plazma prokalsitonin > 2 SD

#### ***Hemodinamik Belirteçler***

- a. Arteriyel hipotansiyon (sistolik kan basıncı < 90 mmHg, OAB < 70 veya sistolik kan basıncında 40 mmHg'dan fazla düşme veya yaşa göre normal değerlerin 2 SD altına düşmesi)
- b. SvO<sub>2</sub> > %70
- c. Kardiyak indeks > 3,5 L/dakika

#### ***Organ Fonksiyon Bozuklukları***

- a. Arteriyel hipoksi (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> > 300)
- b. Akut oligüri (idrar çıkışı < 0,5 mL/kg/saat veya 45 mL en az iki saat)
- c. Kreatinin artışı > 0,5 mg/dL
- d. Koagülasyon bozuklukları (INR > 1,5 veya aPTT > 60 saniye)
- e. İleus (bağırsak seslerinin olmaması)
- f. Trombositopeni (trombosit sayısı < 100.000/mm<sup>3</sup>)
- g. Hiperbilirubinemi (plazma total bilirubin > 4 mg/dL veya 70 mmol/L)

#### ***Doku Perfüzyonu***

- a. Hiperlaktatemi (> 1 mmol/L)
- b. Kapiller geri dolumda azalma

SD: Standart sapma, OAB: Ortalama arter basıncı, SvO<sub>2</sub>: Mikst venöz oksijen saturasyonu, PaO<sub>2</sub>: Parsiyel arteriyel oksijen basıncı, FiO<sub>2</sub>: İnspiratuar oksijen fraksiyonu, INR: İnternasyonal normalize edilmiş oran, aPTT: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı.

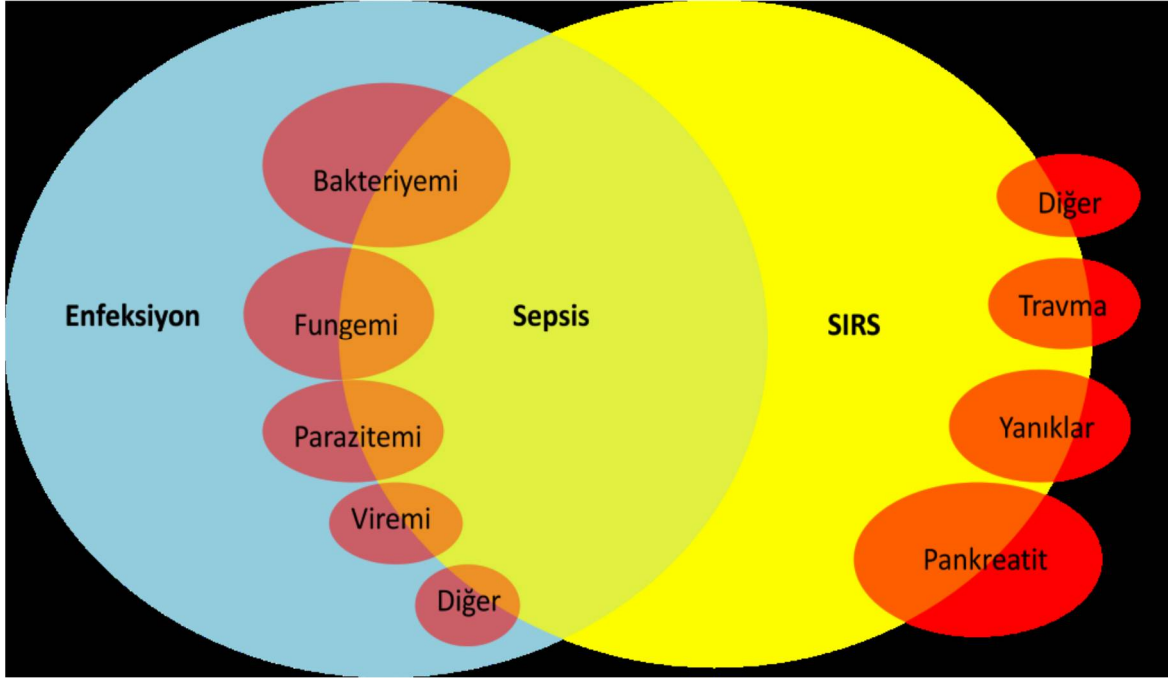
## 2.1. Sepsis ve Sepsis Tanısında Kullanılan Tanımlar

Tıpta bazı hastalıkların tanımı ve şiddetinin derecelendirmesi kolaylıkla mümkün olabilir. Örneğin; akut pankreatit pankreasın değişik etyolojilere bağlı inflamatuvar bir hastalığı olarak tanımlanır. Hiçbiri ideal olmamakla birlikte pankreatit şiddetini belirleyen bir dizi kriter saymak ve klinikte uygulamak mümkündür. Sepsis ve benzeri klinik tablolar için aynı tanımlama ve derecelendirmeleri yapmak zordur. Bu nedenle bu konudaki bilgilerimiz arttıkça belki de yeni tanımlamalar, ekleme ve çıkarmalar yapılması gerekecektir.

**Enfeksiyon:** Mikroorganizma varlığında ortaya çıkan inflamatuvar yanıt “Enfeksiyon” olarak adlandırılmaktadır. 2001 yılında düzenlenen “Uluslararası Sepsis Tanımlamaları” konferansında enfeksiyon normalde steril olan bir doku, sıvı veya vücut kavitesinin patojenik veya potansiyel olarak patojenik mikroorganizmalar tarafından invazyonu olarak tanımlanmıştır(8).

**Bakteriyemi:** Kanda canlı bakteri bulunması durumudur(6).

Sepsis bakteriyemi, fungemi, viremi, parazitemi ile ilişkili olabilir; diğer taraftan bunlar her zaman sepsis sendromuna yol açmaz. Genellikle bakteriyemi geçici, aralıklı veya devamlı olarak kategorize edilir(10, 11). Geçici bakteriyemi birkaç dakika veya birkaç saatte sonlanır; normal mikrobiyal flora ile kolonize anatomik sahaları kapsayan işlemlerle ilişkilidir (örn: kolonoskopi, perikutanöz kateterizasyon, dişçekimi). Aralıklı bakteriyemi kanda aralıklı olarak aynı mikroorganizmanın yol açtığı tekrarlayan bakteriyemi epizodu olarak tanımlanabilir. Tipik olarak kapalı alan enfeksiyonları ile ilişkilidir; örnek olarak intraabdominal abse, yumuşak doku absesi; pnömoni, osteomyelit, spondilodiskit gibi fokal enfeksiyonlar verilebilir. Persistan bakteriyemi ise enfektif endokardit ve vasküler greft enfeksiyonu, mikotik anevrizma veya infekte trombus gibi diğer intravasküler enfeksiyonların karakteristiğidir(10, 12-14). Eğer bakteriyemi, fungemi, viremi veya parazitemi kontrol edilemezse, inflamatuvar yanıt ve pıhtılaşmada önemli değişiklikler ile giden enfeksiyöz süreçle ilişkili klinik bir sendrom olan sepsis gelişimine neden olabilir. Sepsis sendromu sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) ile multipl organ disfonksiyon sendromu (MODS) arasında değişkenlik gösterir.



Şekil-1: 1992 ACCP/SCCM uzlaşa konferans tanımları(15)

**SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome=Sistemik İnflamatuvar Yanıt**

**Sendromu):** Enfeksiyöz (sepsis) veya enfeksiyöz olmayan (pankreatit, yanık, iskemi ve doku zedelenmesi...) nedenleride içine alangoenış kapsamlı bir klinik tablodur.

Aşağıdakilerden iki yada daha fazlasının bulunması gerekir:

- 1) Hipotermi veya hipertermi varlığı (Ateş >38 °C veya <36 °C)
- 2) Kalp atım hızının >90/dk olması
- 3) Solunum sayısının >20 /dk veya PaCO<sub>2</sub> <32 mmHg
- 4) Lökosit sayısının > 12000/mm<sup>3</sup> veya <4000/mm<sup>3</sup> veya periferik yaymada %10'un üzerinde band formunun bulunması

**Sepsis:** Enfeksiyona verilen sistemik inflamatuvar yanıt olarak tanımlanır. Enfeksiyon sonucu SIRS bulgularının iki veya daha fazlasının bulunmasıdır.

**Ciddi Sepsis:** Sepsise organ disfonksiyonu veya hipoperfüzyonu ya da hipotansiyon eşlik ediyorsa ciddi sepsis söz konusudur(16). Ciddi sepsiste hipotansiyon vardır, sistolik

kan basıncı < 90 mmHg veya başka bir neden olmaksızın sistolik kan basıncının 40 mmHg veya daha fazla düşmüştür. Uygun sıvı replasmanına rağmen sepsise bağlı bu hipotansiyon düzeltililemezse septik şok aşamasına geçilmiştir (17).

**Septik Şok:** Sepsiste yeterli sıvı tedavisine rağmen, hipotansiyon ile birlikte perfüzyon bozukluğu belirtilerinin (Örneğin laktik asidoz, oligüri veya mental durum değişiklikleri) devam etmesi durumudur. Birlikte organ disfonksiyonu veya hipoperfüzyona bağlı anormallikler mevcuttur.

Septik şoktaki hastalarda hipotansiyonla beraber görülen perfüzyon bozukluklarında inotrop veya vazopressör ajanların kullanımı tedavide yetersiz kalır (16).

**Multipl Organ Disfonksiyon Sendromu (MODS):** Sepsis hastalarında tablo ağırlaştıkça organ fonksiyon bozuklukları yani organ yetmezlikleri gelişir. Eğer birden fazla organ sistemi fonksiyonlarını kendiliğinden yapamıyorsa çoklu organ yetmezliği geliştiği söylenir. Organ sistemlerinin yetmezlik tanımları Tablo II’de gösterilmiştir (7).

**Tablo II:** Organ Yetmezliği Tanımları (7)

Hastada aşağıdaki değerler ardışık 24 saat boyunca varsa o gün için organ yetmezliği vardır

<b>Kardiyovasküler Yetmezlik (en az birinin varlığı)</b> Kalp hızı $\leq 54$ /dakika Ortalama arteriyel kan basıncı $\leq 49$ mmHg Ventriküler taşikardi, ventriküler fibrilasyon veya her ikisi Serum pH $\leq 7.24$ ve PaCO <sub>2</sub> $\leq 49$ mmHg
<b>Solunum Yetmezliği (aşağıdakilerden en az birinin varlığı)</b> Solunum hızı $\leq 5$ veya $\geq 49$ /dakika PaCO <sub>2</sub> $\geq 50$ mmHg AaDO <sub>2</sub> $\geq 350$ mmHg (AaDO <sub>2</sub> = 713FiO <sub>2</sub> - PaCO <sub>2</sub> - PaO <sub>2</sub> ) Organ yetmezliğinin dördüncü gününde ventilatör desteği gereksinimi
<b>Böbrek Yetmezliği [aşağıdakilerden en az birinin varlığı (kronik diyalizdeki hastalar bu değerlendirilmenin dışındadır)]</b> İdrar çıkışı $\leq 479$ mL/24 saat veya $\leq 159$ mL/8 saat Serum BUN $\geq 100$ mg/dL Serum kreatinin $\geq 3,5$ mg/dL
<b>Hematolojik Yetmezlik (aşağıdakilerden en az birinin varlığı)</b>

Lökosit sayısı $\leq 1000/\text{mm}^3$
Trombosit $\leq 20,000/\text{mm}^3$
Hematokrit $\leq \%20$
<b>Nörolojik Yetmezlik</b>
Glasgow koma skoru $\leq 6$ (sedasyon yokluğunda)

## 2.2.Tarihçe

Enfeksiyon hastalıkları, tarihteki ilk tutanaklardan bu yana insanlarda ölümsebeplerinin başında gelmektedir. İnsanlarda sepsis varlığının kanıtları antik çağlara kadardayanmaktadır. İmparator Shen Nung' un MÖ. 2375 yılında ateş tedavisinde bitkilerin kullanılması konulu ch'ang shan isimli tezi en eski yazılı kaynaktır(18).Sepsis Yunancada çürüme anlamına gelen 'sepo' kelimesinden türetilmiş, bakterilerin varlığında organik maddelerin, bitkilerin ve hayvanların çürümesi anlamında kullanılmıştır(19). Medikal bağlamda ilk defa sepsis terimine 2700 yıl önce Homer' inşiirlerinde rastlanmıştır. Ayrıca MÖ.400 yıllarında yaşamış olan büyük hekim ve filozof Hippocrates,*Corpus Hippocraticum*adlı kitabında sepsis terimine yer vermiştir. Hippocrates hastalığın sebebi olarak düzensiz vücut sıvıları (kan, sarı safra, siyah safra, balgam) kavramlarının bilinmesini sağlamıştır. Hippocrates sepsisi vücudun tehlikeli ve korkutucu biçimde biyolojik çöküşü olarak tanımlamıştır(18).

Galen (MS. 129-199) yunan asıllıönemli bir hekim ve filozoftur. Ayrıca sepsis teorisi hakkındaki çalışmaları ile tanınan tarihi bir kişidir. Çalışmalarının gücünü kullandığı ilaçlardan almaktadır . Onun bu ilk yazıları ve tıp teorileri yaklaşık 1500 yıl sonrasına kadar rakipsiz kalmıştır(18). Ibn Sina ateş ve septisemi birlikteliğini gözlemlemiştir. Herman Boerhaave (1668-1738) adındaki Leyden'de bir doktor havadaki toksik maddelerin sepsis nedeni olduğunu düşünmüştür. 19. yüzyılın başında, kimyager Justus von Liebig bu teoriyi genişleterek yaralar ve oksijen arasındaki temasın sepsis gelişiminden sorumlu olduğunu iddia etmiştir(20).

19.yy da Ignaz Semmelweis (1818-1865) sepsisin modern görünümünü geliştiren ilk araştırmacı oldu. Semmelweiss bir kadın doğum uzmanıdır ve 'Doktorlar ve öğrenciler disseksiyon sonrası kirli elleri ve parmaklarıyla kadavranın ölümle ilişkili zehirini doğum yapan kadınların genital organlarına taşımaktadır' deyip puerperal sepsisi tanımlamıştır. (21).

Fransız kimyager, Louis Pasteur (1822-1895) çürümeye neden olan organizmaların küçük tek hücreli olduğunu keşfetmiştir. Onlara bakteri veya mikrop adını verdi ve bu

mikropların hastalık nedeni olabileceğini doğrulamıştır. Pasteur ‘germ teorisi’üzerinde çalışmalar yapmıştır. Puerperal sepsisin etkeninin *Streptococci* olduğunu kanıtlamıştır(21).

Joseph Lister (1827-1912) Glasgow Kraliyet Revirinde bir cerrah olarak çalışmıştır. Onun cerrahi bölüm başkanı olduğu zamanda amputasyon yapılan hastaların yaklaşık %50 ‘si sepsis nedeniyle ölmüştür. Lister, Semmelweis’in gözlemleri, Pasteur’ün bulguları ve onun hastanedeki ölümleri arasındaki korelasyonu sorgulamıştır. Modern bilimsel çalışmalarla, ilk olarak hayvanlarda, daha sonra insanlarda karbolik asit ile cilt ve cihaz dezenfeksiyonunun etkileri onun tarafından araştırılmıştır. Lister böyle yaparak postamputasyon ölümlerini azaltmayı başarmıştır(20). Lister açık yarası olan hastalarda derideki çatlaklarda infeksiyöz ajanın geçerek sepsis oluşturduğunu düşünmüştür (22).

Almanya’da Eppendorf Hastanesi tıbbi direktörü olarak çalışan doktor H. Lennhartz, çürümenin antik anlayışından, bakteriyel hastalığın modern görünümüne doğru sepsis anlayışında değişikliği başlatmıştır. Ancak, modern sepsis tanımı 1914 yılında Hugo Schottmüller (1867-1936) tarafından yapılmıştır: ‘‘Sepsiste eğer patojen bakteri sürekli veya periyodik olarak kan akışı işgal eden bir odak geliştirmişse, bu subjektif ve objektif semptomlar ayol açar’’. Schottmüller "Bir tedavi direkt bakterilere yönelik olmamalı fakat onların saldırı serbest bakteriyel toksinlere karşı olmalı’’ olarak açıklamıştır. Bu düşünce onu zamanın ilerisine taşımıştır.

1887 yılında, Robert Koch (1843-1910) buhar sterilizasyonu tanıtmıştır ve böylece Lister tekniklerini düzenlemiştir(20). 1967’de Asbough ve arkadaşları sepsisin sıklıkla fatal seyreden bir komplikasyonu olan akut respiratuvar distres sendromunu tanımlamışlar, bunun hasta vücudundan salınan maddelerin neden olduğu inflamatuvar reaksiyonun sonucu olduğunu belirtmişlerdir. 1980lerde ise bu inflamatuvar reaksiyonun sadece akciğerde olmadığı vücudun diğer bölgelerinde de belirgin olduğu keşfedilmiştir. 1989 yılında ise, ABD’den YBÜ uzmanı Roger C. Bone (1941-1997) bugüne kadar hala geçerli olan sepsis tanımını önermiştir; Sepsis mikroorganizmalar ve / veya bunların toksinlerinin kan dolaşımını işgali ve bu işgale karşı organizmanın verdiği cevap olarak tanımlamıştır. Septik hastada meydana gelen çeşitli aşamaları ve fizyolojik değişiklikleri izah ederek yeni tedavi stratejilerinin gelişimini etkilemiştir(23).

### 2.3.Fizyopatogenez

Sepsis karmaşık bir olaydır. Mikroorganizmanın konak defansı ile etkileşimi sonucu oluşur. Hastalığın meydana gelmesini mikroorganizmanın virülans faktörleri ve konağın immün yanıtı belirler.

Mikroorganizmalar dolaşıma girerek sepsise neden olurlar. Genellikle damar dışı bir enfeksiyon odağından intravasküler alana yayılım sonucu girerler. Enfeksiyon bazen de intravasküler kateter, septik tromboflebit, bakteriyel endarterit, endokardit, mikotik anevrizmalar ve damar greftlerinden kaynaklanabilir(17).

Toplum kökenli sepsislerde en sık giriş kapısı solunum sistemi ve üriner sistemdir. Nozokomiyal sepsislerde ise en sık giriş kapısını intravasküler ve üriner kateterler oluştururken; YBÜ'nde ise pnömoniler ön planda görülmektedir(17).

Enfeksiyona karşı konağı koruyan savunma mekanizmalarının bozulması, enfeksiyonlara zemin hazırlar (Tablo III)(24, 25).

**Tablo III.**Konak savunma mekanizmaları

<b>Savunma Mekanizması</b>	<b>Bozan Bazı Durumlar</b>
Deri ve mukoza	Damar içi kateter Yanıklar Travma
Fagositik hücreler	Granülositopeni Diabetes mellitus
Kompleman sistemi	Konjenital veya edinilmiş yetmezlik
İmmunglobulinler	B lenfosit maligniteleri Konjenital veya edinilmiş yetmezlik
T lenfositler	Lenfomalar AIDS

Anatomik bariyer, hücresel defans (fagositikhücreler, lenfositler), spesifik ve nonspesifik humoral defans olarak konak savunma mekanizmaları üç kategoride toplanabilir. Mikroorganizmalara karşı organizmayı koruyan en önemli defans sistemi anatomik bariyerdir. Mikroorganizmalar sağlam deri ve mukozalardan daha derin dokulara ilerleyemez. Travma, yanık ve perkutan damar içi kateter varlığında ise bu bariyer bozulur. Sitotoksik

ilaçlar ve radyasyon tedavisi de mukoza harabiyeti yapar. Diğer önemli bir savunma mekanizması da vücut sekresyon ve ekskresyonlarının normal akımıdır. Eğer obstrüksiyon olursa; o anatomik bölgede dokubasıncı artar, kan akımı azalır ve sonuç olarak bakteriyel proliferasyon gelişir. Sepsisle ilgili risk faktörleri Tablo IV’te belirtilmiştir.

**Tablo IV.** Sepsis için risk faktörleri

<p><b>Konağa Ait Faktörler</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Altta yatan hastalık</li><li>• İleri yaş</li><li>• Siroz</li><li>• Diabetes mellitus</li><li>• Kronik böbrek hastalığı</li><li>• Granülositopeni</li><li>• Geniş travma ve yanıklar</li><li>• Kortikostteroid ve diğer immunosupresif tedavi</li></ul>
<p><b>Tedaviye Ait Faktörler</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Yoğun bakım ünitesinde yatma</li><li>• İnvaziv damar içi kateter kullanımı</li><li>• Fazla miktarda parenteral mayi, kan veya kan ürünleri verilmesi</li><li>• Hemodiyaliz</li><li>• Diğer invaziv kateter ve enstrumantasyonlar<ul style="list-style-type: none"><li>- Üriner kateter ve enstrumantasyon</li><li>- Entübasyon</li><li>- Endotrakeal tüp</li><li>- Mekanik ventilatör</li></ul></li><li>• Büyük cerrahi girişimler</li></ul>

Sepsis patogenezi sitokinler gibi proinflamatuvar mediyatörlerin salınımı, monosit ve mikrovasküler endotelial hücrelerin aktivasyonu, nöroendokrin reflekslerin ortaya çıkması, kompleman, koagülasyon ve fibrinolitik sistemlerin aktivasyonu gibi hücresel düzeyde

kompleks bir sürecin aktive olmasını içerir. Sepsisin başlaması, mikrobiyal komponentlerin, hücreye bağlı veya çözünebilir tanıma molekülleri veya CD14 ve “Toll-like receptors” (TLRs) gibi reseptörler tarafından tanınması ile oluşur, aktivasyon ile inflamatuvar ve immun cevap genleri indüklenir, bunların sonucunda çok sayıda endojen mediyatör salgılanır. Hücre iletişimi peptidi olan, pro ve anti-inflamatuvar özelliği bulunan sitokinler sepsiste organ disfonksiyonu gelişmesi ile ilişkili olan iyi bilinen ve sık çalışılan mediyatörlerdir.

Sepsiste incelenmesi gereken ilk iki molekül tümör nekroz faktör  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve interlökin 1 (IL-1) dir. TNF- $\alpha$  ilk defa 1975’te tanımlanmıştır (26).Lökosit adhezyonu, lokal inflamasyon, nötrofil akvivasyonu, ateş gelişimi, eritropoezin baskılanması, yağ asidi sentezinde azalma ve albümin sentezinde azalma ile ilişkilidir. Bu sitokinlerin ciddi sepsis ile ilişkili olduğunu gösteren son kritik basamaklar bazı çalışmalar ile gösterilmiştir. Bu çalışmalarda hastalarda dolaşımdaki TNF- $\alpha$  düzeyi ile hasta sağkalımı arasında bir korelasyon saptanmış(27) ve IL-1 veya TNF- $\alpha$ ’nın hayvanlara enjeksiyonu sonrası ciddi sepsis ve organ disfonksiyonunun tüm hemodinamik bulgularının enjekte edilen hayvanlarda gözlenmesiyle sitokinlerin önemi ispatlanmıştır. Ayrıca TNF- $\alpha$  ve IL-1’in etkisinin ciddi enfeksiyonda bloke edilmesi ile komplikasyonlar önlenmiş ve daha iyi sonuçlar alınmıştır. Sepsisle ilişkili olduğu varsayılan diğer sitokinler ve proinflamatuvar mediyatörler, “high mobility group box 1” (HMGB1) proteini (28)ve “macrophage migration inhibitory factor”dür (MIF)(29).

İmmun sistemin hücreleri virüs, bakteri, mantar ve protozoa gibi hepsinin olmasa da birçoğunun moleküler özelliklerini tanıyabilirler. Moleküler özelliklerden bazıları Gram negatif bakteri duvarında bulunan lipopolisakkaritler (LPS, endotoksin), Gram pozitif bakteri duvarında bulunan lipoteikoik asit ve peptidoglikan, metilsiz bakteriyel DNA veya çift sarmallı viral RNA’dır. Memeli olmayan canlıların bu molekülleri üç tane özel reseptör tarafından tanınır: TLRs, intracelluler nucleotid oligomerization domain (NOD) proteinleri ve peptidoglikan tanıyıcı proteinleri(30, 31). İnsanlarda on farklı tür TLR tanımlanmıştır(32, 33).Bunların çoğu CD14 gibi moleküllerle veya hücre yüzeyinden salgılanan diğer TLRs ile bağlantı kurarlar. Mikrobiyal molekülün kendine özel TLR ile bağlanması Toll/interlökin 1 reseptöründen (TIR) sinyal iletimi ile sonuçlanır, bu da intraselüler enzim kaskadını başlatır(34). Bu enzimler kinazlardan oluşur. Kinazlar proteinleri fosforilleyerek aktive eder. Gram negatif bakterinin duvarından salgılanan LPS, TLR4 ve CD14’e bağlanır ve TLR kökenli myeloid differentiation protein (MyD)-88’i aktive eder. Bu aktivasyon ile interleukin 1 receptor associated kinase (IRAK) deaktive olur, bu da tumour necrosis factor receptor

associated factor (TRAF)'ı ve TRAF-associated kinase (TAK)'ı uyarır (30). Bunun sonucunda bir nükleer transkripsiyon faktörü nuclear factor kappaB (NFkB) inhibitöründen ayrılır ve hücre çekirdeğine girer. NFkB'nin DNA'ya bağlanmasıyla inflamatuvar süreçte sayıları artan proteinleri kodlayan yüzlerce özel gen eksprese olur(35). NFkB birçok transkripsiyon faktörü arasında en çok araştırılan moleküldür.

NFkB aracılığıyla eksprese edilen genlerden biri TNF'yi kodlar, TNF diğer organlara inflamasyonu taşır ve interlökin 6 (IL-6) ile karaciğerde, C-reaktif protein ve fibrinojen gibi akut faz reaktanlarının üretimini indükler. Ayrıca TNF, programlı hücre ölüm veya apoptoziste çok önemli bir rol oynar. Bir diğer aktive olan enzim inducible nitric oxide synthase (iNOS)'dur. iNOS konsantrasyonu gen aktivasyonundan sonra yükselir, fonksiyonu nitric oxide (NO) seviyesini yükseltmektir. NO proinflamatuvar bir moleküldür(29).NO, guanyil siklaz gibi diğer enzimleri aktive eder. Guanyil siklaz, siklik guanozin monofosfat (cGMP) üretimini sağlar.

Bütün bu sürecin klinik etkisi lokal ve sistemik vazodilatasyondur ki bu da hipotansiyon ve şoka sebep olur. İlginç olarak bu ikisinin farmakolojik olarak inhibisyonu septik şoktaki hastaların kan basıncında yükselmeye neden olur ama sağ kalıma etkisi olumsuz yöndedir(31, 32). Sepsis sırasında proinflamatuvar mekanizmalar kuvvetle aktive olur, bununla beraber aynı anda anti-inflamatuvar mekanizmalar da aktive olur(36). Bu mekanizmalar IL-10 ve çözünebilir TNF reseptörü gibi özel sitokinlerin artışı ve lenfosit hücre sayısında azalmayı içerir(37). Denge erken dönemde proinflamatuvar süreç geç dönemde anti-inflamatuvar süreç lehinedir (35). Bu sistemik anti-inflamatuvar cevabın, sistemik proinflamatuvar etkilerin zararlarını ve infeksiyon sahasındaki inflamasyonun konsantrasyonunu azaltıcı etkisi olabilir(30). Fakat anti-inflamatuvar mekanizmalar baskın hale gelirse immün sistem deprese olabilir (immunparalizi), bu da vücudun nazokomiyal infeksiyonlara yatkınlığını artırır ve sitomegalovirüs gibi fırsatçı patojenlerin reaktive olmasına sebep olabilir(38, 39).

Septik hastalarda mikrosirkülasyondaki değişiklikler de iyi belirlenmiştir ve bu değişiklikler dokuya oksijen dağıtımını azaltabilir(40). Hücrede mitokondri adenozin trifosfat (ATP) üretmek için oksijene ihtiyaç duyar ve oksidatif fosforilasyon ile ATP üretir. Vücudun oksijeninin %90'ndan fazlası bu yolla üretilir. İntrasellüler enerji ihtiyacının çoğu ATP tarafından karşılanır, ayrıca hücresel fonksiyonlar için de ATP gereklidir. Enfeksiyonu takiben mitokondri yapısal ve fonksiyonel olarak hasar görür(41, 42).

Enfeksiyon sistemik inflamatuvar bir sürece ilerlerse sepsis başlar. Enfeksiyonun uyarısına vücut selüler ve humoral komponentleri kullanarak immün sistem aracılığıyla cevap verir. Patojenin tanınmasıyla pro ve anti-inflamatuvar mediyatörler salgılanır ve vücudun daha fazla zarar görmesini engellemeye çalışır. Patojenler inhibisyon yoluyla veya direk genomunu deprese ederek mitokondriyal disfonksiyona neden olurlar. Organ disfonksiyonu hasta için koruyucu bir etkiye de sahiptir, hibernasyona sebep olarak enfeksiyon sonrası için rezerv oluşturabilir(43).

#### **2.4.Epidemiyoloji**

Sepsis ve septik şok önemli mortalite ve morbidite nedenlerindedir. Sepsis gelişen hastalarda sıklıkla altta yatan başka bir hastalık olduğu için ve klinik bulgulardan en az sepsis kadar bu hastalıkta sorumlu olabileceği için sepsis tanısının konması güçtür ve insidansı tam olarak saptanamamaktadır.

Amerika Birleşik Devletleri(ABD) Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi(CDC), bakteriyemi kodlarından faydalanılarak, 1979-1987 yılları arasında sepsis insidansında yaklaşık %139'luk ciddi bir artış belirlenmiştir(44).ABD'inde her yıl yaklaşık olarak 500,000 yeni olgu bildirilmektedir. Kaba mortalite oranı % 35'tir. Yeni tahminlere göre yılda 751,000 yeni sepsis olgusunun görüldüğü, 250,000'inin ölümle sonuçlandığı düşünülmektedir(1).

ABD'inde Ulusal Sağlık İstatistikleri Merkezi (National Center for Health Statistics) verilerine göre sepsis, koroner dışı yoğun bakım ünitelerinde en sık ölüm sebebi olarak rapor edilmiştir. Bu artışın muhtemel sebepleri her geçen gün kronik hastalığı olan hasta sayısının artması, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) epidemisi, kanser sıklığının artması, kemik iliği ve organ nakli hastalarının sayısının artması, bu hastaların daha agresif tedaviler alması olabilir. Ayrıca gene bu verilere göre 1996'da ölüm nedenleri arasında 10. sırada yer almaktadır(44).

1997-1998 yılları arasında sekiz ülkede ve 28 YBÜ'de toplam 14364 hastada çalışma yapılmıştır. 3034 hastada enfeksiyon saptanmıştır. Enfeksiyonu olan bu hastaların da %28'i sepsis, %24'ü ağır sepsis, %30'u septik şok olarak tanımlanmıştır. Mortalite enfekte olmayan hastalarda %16,9 oranında iken hastane enfeksiyonu olan hastalarda %53,6 olarak gözlenmiştir(45).

ABD'de 1979-2000 yılları arasını kapsayan, 22 yıllık periyodu tarayan bir çalışmada 10319418 sepsis vakası izlendiği bildirilmiştir. Çalışmada belirtilen bu sayı hastaneye yatan

hastaların %1,3'ünü oluşturmaktadır. Sepsis insidansında yıllık %13,7'lik bir artış olduğu saptanmıştır. Mortalite oranı 1979-1984 yılları arasında %28 iken, 1995-2000 yılları arasında %18'e düşmüştür, fakat toplam kaybedilen hasta sayısı halen artmaya devam etmektedir(44).

Avrupa'da 2002 yılında bir çalışma yapılmış ve 24 ülkeyi ve 198 yoğun bakım ünitesini kapsayan bu çalışmada toplam 3147 hasta çalışmaya alınmıştır. Sepsis insidansı %37,4 olarak hesaplanmıştır(46).

Ülkemizde sepsisle ilgili yeterli veri yoktur ancak ABD'deki oranlar ülkemiz nüfusuna uyarlandığında yılda 100.000 civarında sepsis görülmesi gerektiği söylenebilir. Ülkemizde en kapsamlı çalışma Hacettepe Üniversitesi'nde 1983-1989 yılları arasında yedi yıllık bir periyotta yapılmıştır. Hastanede yatan hastalar arasında Gram negatif sepsis insidansı 4,2/1000 ve mortalitesi %45 olarak bulunmuştur. Bunların sadece Gram negatif bakterilerle gelişen sepsis olduğu düşünülürse ve bir bu kadar da Gram pozitif bakterilerle sepsis geliştiği varsayılırsa tüm oranın yaklaşık 8/1000 olduğu söylenebilir(47). Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Hastanesi YBÜ'de 1997 yılında yapılan bir yıllık çalışmada ise nozokomiyal sepsis oranı %33,1 olarak bulunmuştur(48).

ABD'de sepsis insidansı beyaz olmayanlarda beyazlara göre ve erkeklerde kadınlara göre daha sık olarak saptanmıştır. Atak oranının infantlarda, özellikle de düşük doğum ağırlıklı yenidoğanlarda daha yüksek olduğu (500/100.000) bildirilmiştir. Ortalama yaş yaklaşık 60 olarak tespit edilmiştir(49).

## **2.5.Prognoz**

Sepsiste mortalite oranı sepsiste % 16, ciddi sepsiste % 20 ve septik şokta % 46 olarak bulunmuştur. Organ veya sistemlerde gelişen fonksiyon bozukluğu arttıkça mortalite oranı da artmaktadır(49).

Yapılan çalışmalarda sepsis evreleri ile ilgili mortalite oranları SIRS'da %6-27, sepsiste %10-36, ağır sepsiste %18-52 ve septik şokta %46-82 arasında bildirilmiştir.

Prognozu etkileyen faktörler;

-Altta yatan hastalık (nötropeni, hipogammaglobulinemi, diyabet, alkolizm, böbrek yetmezliği, solunum yetmezliği);

-Tedavi başladığında enfeksiyona bağlı komplikasyonların gelişmiş olması (şok, anüri );

-Bakteriyeminin şiddeti (polimikrobiyal bakteriyemi);

-Enfeksiyon kaynağı;

---

- Enfeksiyonun geliştiği yer (nozokomiyal);
  - Hastanın yattığı servis (yoğun bakım ünitesi);
  - Antibiyotik tedavisinin uygunluğu;
  - Tedavinin başlanmasına kadar geçen zaman; ileri yaş sayılabilir(50).
- 

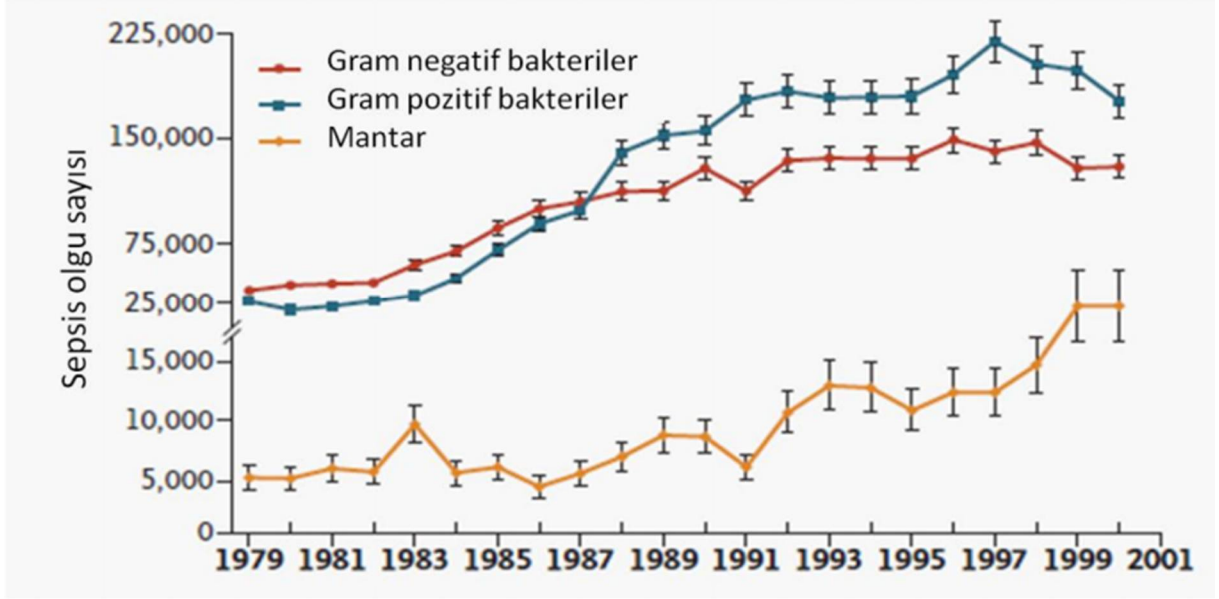
## 2.6.Etyoloji

Bakteri, virüs, parazit, mantar enfeksiyonları sepsis oluşumu veya septik şoka neden olabilmektedir. Etyolojide en sık rol alan ajanlar ise bakterilerdir(51).

Zaman içinde sepsis nedeni olarak Gram pozitif organizmaların sıklığı artmıştır ve şuan neredeyse Gram negatif enfeksiyonlar kadar yaygındır(44, 46, 52, 53). Bu artışın nedenleri olarak; 3. kuşak sefalosporinler ve kinolonlar gibi Gram negatif bakterilere etkili antibiyotiklerin kullanımının artması, daha uzun süre yaşamı mümkün kılınan kanser, kollajen doku hastalığı gibi hastalıkları olan kişilerde uzun süreli kateter uygulanmasının artması, vücut içi protez kullanımının artması ve kronik ambulatuvar periton diyalizi gibi yöntemlerin geliştirilmesi sayılabilir(54, 55).

Martin ve ark'nın yaptığı çalışmada 2000 yılı izolatlarına bakıldığında; Gram pozitif bakteriler %52,1, Gram negatif bakteriler %37,6, polimikrobiyal %4,7, anaerobik bakteriler %1 ve mantarlar %4,6 olarak saptanmıştır. Mantarların insidansı 1979 yılından 2000 yılına gelindiğinde %207 oranında artış göstermiştir (Şekil-1)(44). Mantarların insidansının artışına neden olabilecek risk faktörleri arasında uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, parenteral hiperalbuminasyon, intravasküler kateter uygulaması ve kortikosteroid tedavisi olarak sayılabilir(56, 57).

Sepsisli hastaların çoğunda kan kültürlerinde üreme saptanamamaktadır. Bu oranlar sepsis evresiyle değişmekte olup, sepsiste %17, ciddi sepsiste %25 ve septik şokta ise %69 olarak bulunmuştur(58).



Şekil 2. Etken olan patojenlere göre ABD'deki sepsis olguları(44)

Şiddetli sepsise neden olan organizmanın türü sonucun belirleyicisi olarak önemlidir. En son çalışmalar Gram pozitif organizmaların gittikçe artan bir oranda olduğunu bildirmesine rağmen; son Yoğun Bakımda İnfeksiyonların Avrupa prevalansı ( European prevalence of infection in intensive care: EPIC II) çalışmasında ise Gram negatif organizmaların daha fazla olduğunu bildirmektedir (%62,2 vs. %46,8)(59). Geçmiş çalışmalarla karşılaştırıldığında enfeksiyona yol açan organizmaların paterni benzer olarak bulunmuş; baskın mikroorganizmalar olarak şunlar saptanmıştır: *Staphylococcus aureus*(20,5%), *Pseudomonas* türleri(19,9%), *Enterobacteriaceae*(esas olarak *E. coli*, 16%), ve funguslar (19%). *Acinetobacter* türlerinin farklı bölgelerdeki enfeksiyon oranı değişmekle beraber tüm enfeksiyonların %9'unda saptanmıştır. (Kuzey Amerika'da 3,7%, Asya'da19,2%). Çok değişkenli lojistik regresyon analizinde hastane mortalitesi ile ilgili organizmalar enterokoklar, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türleri olarak bulunmuştur(59).

EPIC II 'nin mikrobiyolojik sonuçları Tablo V'de özetlenmiştir.

Tablo V. Kültür pozitif enfekte hastalardaki mikroorganizma tipleri ve hastane mortalitesi ile ilişkisi

	Sıklık (%)	OR (%95 CI)
<b>Gram pozitif bakteriler</b>	<b>46.8</b>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	20.5	0.8 (0.6-1.1)
MRSA	10.2	1.3 (0.9-1.8)

<i>Enterococcus</i>	10.9	1.6 (1.1-2.3)
<i>S. epidermidis</i>	10.8	0.9 (0.7-1.1)
<i>S. pneumoniae</i>	4.1	0.8 (0.5-1.4)
Diğer	6.4	0.9 (0.7-1.2)
<b>Gram negatif bakteriler</b>	<b>62.2</b>	
<i>Pseudomonas</i> türleri	19.9	1.4 (1.2-1.6)
<i>Escherichia coli</i>	16.0	0.9 (0.7-1.1)
<i>Klebsiella</i> türleri	12.7	1.0 (0.8–1.2)
<i>Acinetobacter</i> türleri	8.8	1.5 (1.2–2.0)
<i>Enterobacter</i>	7.0	1.2 (0.9–1.6)
Other	17.0	0.9 (0.7–1.3)
<b>Anaeroblar</b>	4.5	0.9 (0.7–1.3)
<b>Diğer Bakteriler</b>	1.5	1.1 (0.6–2.0)
<b>Funguslar</b>		
<i>Candida</i>	17.0	1.1 (0.9–1.3)
<i>Aspergillus</i>	1.4	1.7 (1.0–3.1)
Diğer	1.0	1.9 (1.0–3.8)
<b>Parazitler</b>	0.7	1.3 (0.5–3.3)
<b>Diğer organizmalar</b>	3.9	0.9 (0.6–1.3)

OR, olasılık oranı; CI, güven aralığı; MRSA, metisilin dirençli *S. aureus*

Beşyüz on örnekli büyük bir metaanaliz sonucunda Gram pozitif bakteriyemi ile karşılaştırıldığında Gram negatif baktariyemi daha yüksek mortalite ile ilişkili bulunmuştur(60). Kan dolaşımı enfeksiyonları en sık koagülaz negatif stafilokok ve *E.coli* nedeniyle görülmüştür; fakat bunlar *candida*(43%) ve *acinetobacter*(40%) türleriyle karşılaştırıldığında relatif olarak daha düşük mortaliteyle ilişkili bulunmuştur (koagülaz negatif stafilokok %20 ve *E.coli*%19). *Staphylococcus aureus*'un (41%) neden olduğu Gram pozitif pnömoninin diğer en sık neden olan Gram pozitif bakterilere (*Streptococcus pneumoniae*, 13%) kıyasla daha yüksek mortalitesi vardır; fakat hepsi içinde Gram negatif basil olan *Pseudomonas aeruginosa* en yüksek mortaliteye sahiptir (77%).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada toplum kaynaklı sepsislerde en sık etkenler olarak *E.coli*, *S.aureus*, *S.pneumoniae* izole edilmiştir(61). Yine ülkemizde nozokomiyal

bakteriyemilerde en sık etkenler *Staphylococcus* spp. *Enterococcus* spp. ve *E.coli* olarak saptanmıştır(62). Bir başka çalışmada nozokomiyal sepsis olgularında % 48,7 oranında Gram negatif bakteriler (en sık *P. aeruginosa* ve *E. coli*) sorumlu iken, % 47,9 oranında Gram pozitif bakteriler (en sık *S. aureus*) etken olarak görülmüştür (48).

## 2.7. Enfeksiyon Bölgesi

Sepsis geliştiği düşünülen hastalarda en sık solunum yolu enfeksiyonları özellikle de pnömoni saptanır ve yüksek mortalite ile ilişkilidir(63). Ancak pnömoninin önemi zamanla göreceli olarak azalmıştır(64). Genitoüriner sistem enfeksiyonları bayanlarda en sık görülürken(63), erkeklerde ve alkoliklerde özellikle pnömoniyeye eğilim vardır(65). Enfeksiyonun diğer sık görülen kaynakları abdominal, deri ve yumuşak doku, yabancı cisim ilişkili, santral sinir sistemi ve endokardittir(28, 66). Ağır sepsisli hastalarda görülen en sık enfeksiyon bölgeleri Tablo VI’de özetlenmiştir.

**Tablo VI.** Ağır sepsisli hastalarda cinsiyete göre en sık rastlanan enfeksiyon bölgeleri ve ilişkili kaba mortalite oranları(66)

Enfeksiyon bölgesi	Sıklık (%)		Mortalite (%)	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
Solunum sistemi	41,8	35,8	22,0	22,0
Bakteriyemi, odağı belirsiz	21,0	20,0	33,5	34,9
Genitoüriner	10,3	18,0	8,6	7,8
Abdominal	8,6	8,1	9,8	10,6
Yabancı cisim ilişkili	1,2	1,0	9,5	9,5
Yara/yumuşak doku	9,0	7,5	9,4	11,7
Santral sinir sistem	0,7	0,5	17,3	17,5
Endokardit	0,9	0,5	23,8	28,1
Diğerleri	6,7	8,6	7,6	6,5

## 2.8. Tanı

Sepsisin erken tanısını koymak için öncelikle hastalardan dikkatli anamnez alınması, klinik belirti ve bulguların iyi değerlendirilmesi önemlidir. SIRS tanı kriterlerinin yanı sıra

şuur değişikliği, hiperbilirubinemi, metabolik asidoz, trombositopeni, yeni gelişen deri lezyonlarının varlığı sepsis tanısı için ipuçları olabilir. Klinik tanı, laboratuvar bulguları ile desteklenmelidir. Sepsiste klinik evrelere göre farklı laboratuvar bulguları gözlenir(17).

Sepsis tanımı oldukça karışıktır. SIRS kriterleri bir çok klinik tabloda ortaya çıkabileceği gibi sepsis çok daha farklı bir klinik tablo ile ortaya çıkabilmektedir. Özellikle YBÜ başta olmak üzere hastanede gelişen sepsis kliniği ile çok sayıda klinik tablo karışabilmektedir. Tablo VII’de sepsis ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken durumlar belirtilmiştir.

**Tablo VII.** Sepsise benzer klinik tablo oluşturan enfeksiyon dışı durumlar (67)

<b>Klinik olarak sepsise benzer durumlar</b>	<b>Hemodinamik olarak sepsise benzer durumlar</b>
Hemoraji	Akut pankreatit
Pulmoner emboli	Spinal kord hasarı
Miyokard infarktüsü	Anafilaksi
Pankreatit	Adrenal yetmezlik
Diyabetik ketoasidoz (abdominal kriz)	
SLE’nin abdominal kriz ile alevlenmesi	
Ventrikuler pseudoanevrizma	
Masif aspirasyon/atelektazi	
Sistemik vaskulit	

Sepsis tanısını koymak için yapılması gerekenleri 2 gruba ayırabiliriz

1. Non-sfesifik testler: hematolojik testler, biyokimyasal testler, kan gazı, inflamasyon belirleyicileri

2. Spesifik testler: kan kültürü (altın standart), moleküler testler.

### **2.8.1 Non-Spesifik Testler**

#### **2.8.1.1. Hemotolojik testler**

Genellikle lökositoz ve sola kayma görülür. Lökosit sayısı  $>12\ 000/\text{mm}^3$  dir. SIRS kriterleri arasında olan lökositoz veya formülde sola kaymanın özgülüğü çok düşük, duyarlılığı ise nispeten yüksektir. Bu kriterler daha önce de belirtildiği gibi gastrointestinal kanama, steroid kullanımı, kan transfüzyonu sonrası, cerrahi sonrası, ve miyokard infarktüsü ve bunun gibi noninflamatuvar durumlarda da görülebilmektedir. Yine de çok kolay değerlendirilebilmesi nedeniyle enfeksiyon izleminde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır(8, 68). Bazen lökomoid reaksiyon görülebilir ve lökosit sayısı  $50.000-100.000/\text{mm}^3$ 'e kadar çıkabilir. Özellikle yenidoğanlarda, yaşlılarda, alkoliklerde ve diğer kemik iliği rezervi yeterli olmayan hastalarda karşılaşılan lökosit sayısının  $<4000/\text{mm}^3$  olması durumunda lökopeniden söz edilir. Periferik yaymada ise nötrofillerde toksik granülasyon, Dohle cisimleri ve vakuolizasyon görülür. Bunların içinde vakuolizasyon bakteriyeminin önemli işareti kabul edilmektedir. Sepsiste serum demiri azalır. Dissemine intravasküler koagülasyon(DIC) gelişen hastaların laboratuvar tanısında kullanılacak spesifik bir test yoktur. DIC tanısını koymada trombosit sayısında hızlı düşüş veya  $100.000/\text{mm}^3$  altında olması, protrombin zamanında ve aktive parsiyel tromboplastin zamanında uzama, plazma fibrin yıkım ürünlerinde artış, koagülasyon inhibitörlerinin (AT-III, Protein-C) plazma seviyelerinin azalmasının gösterilmesi parametreleri kullanılır. Akut faz reaktanı olması nedeniyle plazma fibrinojen seviyesi, sepsisin erken döneminde normal sınırlarda bulunabilir. Ağır sepsislerde hipofibrinojenemi gelişir. DIC gelişen hastaların periferik kan yaymasında eritrositlerde parçalanma ve şistositler görülür(58, 69-71).

#### **2.8.1.2. Biyokimyasal Testler**

Kan üre nitrojeni (BUN) ve kreatinin seviyesi şokta veya şok olmaksızın da artabilir. Şok durumunda genellikle akut tübüler nekroz sonucu ve bunun sonucu olarak azotemi ve oligüri gelişir. Sepsisli hastalarda hepatobiliyer sistem tutulumu olmaksızın da karaciğer fonksiyon testlerine bozulma görülebilir. Özellikle de direkt bilirubin artışı ile beraber hiperbilirubinemi, alkalen fosfataz ve transaminaz seviyelerinde orta derecede artış saptanır(17, 55, 72). Ciddi sepsisli hastalarda albumin  $1,5-2\ \text{g/dl}$  düzeylerine kadar ani

düşebilir. Albumindeki bu azalma yaygın endotel hasarı ve proteinin kapillerlerden sızması sonucu oluşur. Altta yatan kronik hastalık varlığında veya uzamış enfeksiyonda yetersiz beslenme, karaciğer metabolizmasıyla akut faz proteinlerine dönüşüm nedeniyle de albuminde azalma gözlenir(73-75).

Solunum yetmezliğini belirlemek için arter kan gazları izlenir. Sepsiste erken dönemde respiratuar alkaloz, daha sonrasında ise metabolik asidoz gelir. Asidozun derecesi hastalığın ciddiyetiyle yakından ilişkilidir. Hipoksi hastalığın ciddiyetine ve ARDS için yüksek riske işaretler. Plazma laktat düzeyi metabolik asidozu göstermek için belirlenir. Sepsiste doku hipoksisinin derecesiyle ilişkili olarak laktat artar(43).

### **2.8.1.3. İnflamasyon Belirleyicileri**

SIRS'in enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz nedenlerini ayırt edebilmek için çeşitli laboratuvar testleri gündeme gelmiştir. Prokalsitonin (PCT), C-reaktif protein (CRP), TNF- $\alpha$ , soluble tümör nekrozis faktör reseptörleri, IL-1, IL-16 reseptör antagonisti, IL-6, IL-8, E-selektin, soluble interselüler adezyon molekülü 1, protein C, lökosit elastaz, granülosit koloni stimulan faktör (G-CSF), kompleman 3a, eritropoetin, serum amiloid protein, neopterin, plazma nitrit/nitrat konsantrasyonu bunların başlıcalarıdır(17). Bunlar içerisinde SIRS'in enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz nedenlerinin ayırımında PCT ve CRP daha yararlı bulunmuştur(76-78) ve bu ikisi SIRS kriterlerinde yer alan beyaz küre sayısı ile ilgili kriter yanında laboratuvar belirleyicileri olarak 2001 yılı kriterlerine eklenmiştir(8). Bunlar özellikle enfeksiyona bağlı durumlarda daha çok artış gösteren akut faz reaktanlarıdır (68).

#### **2.8.1.3.1. C-reaktif protein**

CRP inflamasyon veya doku hasarı sonrası hepatositler tarafından sentezlenen akut faz proteindir. Enfeksiyona veya doku inflamasyonuna cevap olarak CRP üretimi özellikle IL-6, IL-1 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler tarafından uyarılır. Bu uyarı ile kompleman aktivasyonu ve fagositik hücre fonksiyonlarının düzenlenmesi sağlanır(79). CRP enfeksiyona özgü bir gösterge değildir. Fakat bakteriyel enfeksiyonlarda en yüksek seviyeye ulaşır, kronik inflamatuvar olayların akut alevlenmelerinde yükselir; bu yüzden geniş kullanım alanı vardır. İnflamasyon ve doku hasarının çözünmesini takiben CRP düzeylerinin hızlı bir şekilde düşmesi bakteriyel enfeksiyonlarda CRP'nin tedaviye yanıtı değerlendirmek için

kullanılmasını sağlamıştır(80). Cerrahi, travma, yanık, akut pankreatit, inflamatuvar hastalıklar, maligniteler, akut myokard infarktüsü gibi durumlarda da CRP yüksek düzeylere çıkabilir. Ayrıca CRP üretimi immunsupresyon durumunda, kortikosteroidler veya siklosporin ile baskılanabilir(81). İnflamasyondan sonra altı saatte yükselmeye başlar, 48 saatte maksimuma ulaşır. Yarı ömrü 19 saat kadardır(82). Hastalıklı ve sağlıklı kişilerde CRP'nin yarı ömrü değişmez. Bu nedenle CRP yüksek olan bir kişide, ertesi gün CRP düzeyinde değişiklik olmazsa, CRP'nin yükselmesine yol açan inflamatuvar durumda değişiklik olmamıştır diye yorum yapılır. İnflamatuvar neden ortadan kalktığında CRP düzeyinde diğer akut faz proteinlerinden daha hızlı bir azalma olur. Yarı ömrü 19 saat olduğundan, inflamatuvar neden ortadan kalkmışsa, CRP düzeyinin ertesi gün belirgin olarak azalması beklenir. Ancak travma ve cerrahi gibi tek bir uyarının ardından normal seviyelere inmesi günler alır(81). Sağlıklı erişkinlerde plazma seviyesi 10 mg/lt'nin altındadır. Sepsis tanısında optimal CRP üst sınır değeri kesin olarak belirlenmemiş olmakla beraber, 50-100 mg/lt yaygın kabul gören değerleridir, ancak tek bir ölçüm tanıda yeterli olmayabilir. Plazma CRP seviyeleri hemodializden etkilenmez(81). Sepsis tanısında duyarlılık %68-98,5 arasında, özgüllük %40-78 arasında bulunmuş, tek bir ölçümle sepsis tanısının yapılmasında güvenilir bir parametre olmadığı ve sepsis prognozu konusunda da yeterli bilgi vermediği sonucuna varılmıştır(81, 83).

#### **2.8.1.3.2.Prokalsitonin**

Prokalsitonin,kalsitoninin öncül hormonudur. PCT'deki artış enfeksiyonlar sırasında tesadüfen keşfedilmiştir ve bu keşif PCT'nin bakteriyel enfeksiyonların bir belirteci olarak kullanılmasına sebep olmuştur(84). PCT, normal şartlarda tiroid bezinin C hücrelerinde üretilen kalsitoninin propeptididir. Sağlıklı erişkinlerde serum düzeyi 0,1 ng/ml'nin altındadır(83). Sepsis için sınır değer 2 ng/ml, septik şok için ise 11,6 ng/ml olarak belirlenmiştir. Ancak şok tablosunda olduğu kesinleşmiş hastalarda prokalsitonin >5 ng/ml ise etyolojinin enfeksiyon olduğunu düşünmek gerekir(81). Ciddi bakteriyel enfeksiyonlarda plazma kalsitonini anlamlı düzeyde değişmezken, PCT plazma konsantrasyonları yüksek bulunmuştur(84, 85). Bakteriyel enfeksiyonlarda artmış olarak üretilen PCT'nin kaynağının tiroid bezinin C hücreleri olmadığı düşünülmüştür. Tiroidektomi uygulanan hastalarda da PCT seviyelerinin yüksek olarak saptanması bu görüşün doğruluğunu göstermiştir(84-86). Daha sonra inflamatuvar nedeni PCT'nin akciğer, karaciğer,

bağırsaklar ve pankreasta bulunan nöroendokrin hücrelerden salındığı bulunmuştur (85, 87, 88).

Prokalsitonin üretimini bakteriyel endotoksinler, ekzotoksinler ve bazı sitokinler uyarılabilmektedir(85).Yapılan çalışmalarda prokalsitonin düzeylerinin 3.- 4. saatte yükselmeye başladığı, 6-8 saatte pik yaptığı ve bu seviyeyi 24 saat sürdürdüğü saptanmıştır(81, 83, 89, 90). Bakteriyel enfeksiyonu olan hastalarda antibiyoterapi başlanmasından sonra 24 saat içinde prokalsitonin düzeyinde %30'dan fazla düşme olması doğru antibiyotiğin başlandığını ve enfeksiyonun kontrol altına alındığını gösterir. Prokalsitonin düzeyinin yükselmesi ise antibiyoterapinin değiştirilmesini gerektirir(91).

Prokalsitonin konak cevabını gösterir. PCT üretimine tetik çeken asıl sebep enfeksiyonlar olsa da, doku inflamasyonuna yol açan olaylar prokalsitonin üretiminin artmasına neden olur (81).

Enfeksiyonlar dışında PCT üretiminin artmasına yol açan durumları aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- İnhalasyon yaralanmalarında, ciddi yanıklarda,
- Pankreatitte (özellikle obstrüksiyona sekonder gelişenlerde),
- Son dönem böbrek yetersizliğinde,
- Multipl mekanik travmalarda,
- Ciddi cerrahi operasyonların ardından mezenter iskemide,
- Kardiak cerrahi ve kardiyojenik şokta,
- Allejenik nakil yapılan hastalarda ve graftreksiyonunda,
- Multiorgan yetmezliğinde,
- Sıcak çarpmasıtakiben ciddi şekilde yükselebilir(81, 83, 92).

Medüller tiroid karsinomu, küçük hücreli akciğer kanseri ve karsinoid tümörü olan hastalarda da prokalsitonin yüksek bulunabilir(92).

### **2.8.2 Spesifik Testler**

SIRS kriterleri sadece ateş (veya hipotermi), taşikardi, takipne ve artmış (veya azalmış) beyaz küre sayısını içerir ama muhtemel semptom ve bulguların listesi daha fazladır(93). Ne yazık ki bu kriterlerin hiçbiri spesifik değildir. SIRS'taki bir hastaya sepsis tanısı konulabilmesi için enfeksiyon tanınabilmeli ve kanıtlanabilmelidir veya güçlü klinik şüphe olmalıdır. Daha önceleri sepsis tanısında enfeksiyonun mikrobiyolojik olarak kanıtlanması hatta bakteriyemi şart koşulurken günümüzde sepsis tanısı için mikrobiyolojik kanıt gerekli değildir(50).

Enfeksiyon odağı çoğunlukla solunum sistemi (ventilatörle ilişkili pnömoni), abdomen veya üriner sistemdir. Hastalarda mevcut olan kateterler de enfeksiyon oluşturmak için odak oluşturabilmektedir. Sepsiste enfeksiyon %90 oranında bakterilere bağlıdır. Ancak özellikle immün supresif kişilerde diğer etkenlere bağlı olarak da görülebilir. Bu yüzden mikrobiyolojik tanı önemlidir, uygun antibiyotik tedavisi başlayabilmek için şarttır. Uygun olmayan antibiyotik tedavisinde mortalite oranı yüksektir. Ayrıca, lokal epidemiyolojik verileri saptamak, direnç paternlerini tahmin edebilmek ve buna göre ampirik tedaviyi planlamak açısından da gereklidir. Enfeksiyon odağını tespit etmek de çoğu zaman zordur. Odak bulmak için muayene ve hastaya ait risk faktörleri değerlendirilerek olası septik odaklar saptanabilir. Cerrahi veya travma yaraları, arteriyovenöz fistüller, damar yolları, kateter ve protezler, enjeksiyon bölgeleri değerlendirilmelidir. Hastalar endoftalmit, endokardit, intraabdominal apse, sinüzit gibi durumlar da düşünülerek muayene edilmelidir. Mikroskopik inceleme ve kültür için örnekler alınmalıdır. Ateş, hipotermi, titreme, lökositoz, formülde sola kayma, nötropeni, enfeksiyon şüphesi, böbrek yetmezliği, hipoalbuminemi, veya hemodinamik bozukluk varlığında kan kültürü alınmalıdır. Gerekirse görüntüleme yöntemlerine başvurulmalıdır(94).

#### **2.8.2.1.Kan Kültürleri**

Kan kültürü almak için çeşitli endikasyonlar vardır, standardize edilmemiştir. Kan kültürü alınmasının en sık nedeni ateştir. Ayrıca kanda mikroorganizma varlığını düşündüren üşüme, taşikardi, taşipne gibi klinik durumlarda, enfeksiyöz olmayan nedenlerle açıklanamayan ateş ve hipotansiyonda ve nötropenik ateşte kan kültürü alınmaktadır. Deneysel çalışmalarda kanda en fazla mikroorganizma sayısının ateş veya üşüme titremelerin

başlamadan 1-2 saat önce olduğu saptanmıştır. Bu yüzden en ideali ateş pikinden 1,5 saat önce kan kültürü alınmasıdır. Ancak ateş pikinin ne zaman olacağı tahmin edilemediğinden semptomların başlangıcında (ateş, üşüme vb) kan kültürleri alınabilir. Ateşsizken; lokal enfeksiyonu olan hastalardan (pnömoni, menenjit, osteomyelit gibi); açıklanamayan lökositozu ve böbrek yetmezliği olan hastalardan; bozulmuş immün sistemi olan veya yoğun bakımda açıklanamayan pulmoner, renal veya hepatik fonksiyon bozukluğu olan hastalardan; açıklanamayan hemodinamik bozuklukları olan hastalardan kan kültürü alınabilir(95, 96).

Kandaki yaşayan mikroorganizmaları saptayan kan kültürü sistemleri kan dolaşımı enfeksiyonlarının tanısında halen altın standart yöntemdir. Sepsisli hastaların sadece 1/3'ünde pozitif kültür mevcuttur(97). Kan kültürleri antibiyotik tedavisinin doğru ayarlanmasında çok önemlidir(16). Sepsisli hastalarda kan kültürünün amacı identifikasyon, duyarlılık testi ve tiplendirme ile başlangıç empirik tedaviyi optimize etmek için mikroorganizma izolasyonudur. Kan kültürü ile üreyen patojenden yapılan antimikrobiyal duyarlılık testi halen mevcut diğer tanısal testlerle yapılamamaktadır, bu kan kültürü için önemli bir avantajdır. Antimikrobiyal tedavinin hızlı ve doğru başlangıcı septik hastaların başarılı tedavisi için çok önemlidir(98, 99). Uygunsuz antimikrobik tedavi önemli bir konudur ve artmış mortalite ile ilişkilidir(100). Uygunsuz antibiyotik tedavisi şu sonuçları içerir; altta yatan gerçek patojeni saptamada eksik kalır; hastane enfeksiyonlarına neden olan etken patojenin direncine ve gelişmekte olan çoklu dirençli Gram negatif bakteri enfeksiyonlarının seçilmesine yol açar (101).

Sepsis takibinde kan kültürü her zaman enfeksiyon için zamanında yüksek diagnostik doğruluk sağlayamaz. Rutin olarak pozitif sonuç alınması birkaç gün alır ve sıklıkla negatif sonuç verir(102). Başlangıçtaki klinik şüphe ile enfeksiyonun confirmasyonu arasındaki sürede erkenden empirik olarak geniş spektrumlu antimikrobiyal tedaviye başlanır; çünkü tedavideki gecikme mortalitede önemli bir artışa neden olur (102-104). Septik şoklu hastalarla yapılan geçmiş bir kohort çalışması göstermiştir ki; hipotansiyon başlangıcından sonra efektif antimikrobiyal tedavideki her bir saatlik gecikme surveyde ortalama %8 lik bir düşme ile ilişkilidir(104).

Erişkin hastalar için her septik epizodda iki veya üç ayrı set kan kültürü alınmalıdır. Bunun sebeplerinden ilki bakteriyemi ve fungemi epizodlarının % 95'den fazlası iki veya üç kan kültürü alındığı zaman saptanmasıdır. İkincisi ise klinik olarak önemli ve kontaminant mikroorganizmalar arasında ayırım yapmada klinisyene yardım etmesidir(95, 96).

Kan kültürleri şunda devamlı moniterize kan kültürü sistemleri ile gerçekleştirilmesine rağmen, bu altın standart yöntemin sensitivitesini azaltan birtakım faktörler mevcuttur.

#### **2.8.2.1.1.Kan Kültürü Sensitivitesini Etkileyen Faktörler**

Her bir kan dolaşımı infeksiyonu şüphesinde iki yada üç kan kültürü seti alınması önerilir. Her sette alınan 20-30 ml kan örneği eşit bir şekilde aerobik şişe ve anerobik şişelere konulur(105).

a)*Kan volümü:*Kan kültürünün diagnostik verimini etkileyen en önemli faktörlerden biri kan volümüdür(106). Erişkinlerde ve pediatrik hastalardaki birçok çalışma konfirme etmiştir ki; alınan kan miktarının artmasıyla birlikte kan kültürlerinden izolasyon oranları artar. Bu kan volümünün her zaman yeterli olarak alınmadığı pediatrik hastalarda önemlidir(98).

b)*Örneklemeden inkübasyona kadar geçen süre:*Tanısıl sonuçları etkileyen diğer bir önemli değişken kanın alınmasından kan kültürü şişelerinin cihaza yerleştirilmesine kadar geçen zamandır(107). İdeal olarak şişeleri yüklemeye gecikmeler nedeniyle yanlış negatif örnek sayısını azaltmak ve algılama zamanını minimize etmek için kan kültürleri devamlı moniterize cihaza hızla yüklenmelidir. Kültürler otomatik cihaza konulmadan önce oda sıcaklığında 12 saat ve daha fazla zaman 37°C' de preinkübe edildiğinde geri dönüşümde belirgin azalma görülmüştür(107).

c)*Müşkülpesent patojenler ve antimikrobiyal tedavi:* Kan kültürlerinin intrinsik sınırlaması *Bartonellaspp.*, *Fransiellatularensis*, *Mycoplasma spp.*, birçok küf ve *Nocardia spp* gibi yavaş üreyen ve müşkülpesent organizmalara düşük sensitivitesinin olmasıdır(105, 108). *Riketsia spp.*,*Coxiella burnetti*, *Chlamydophila pneumoniae* ve *Tropheryma whipplei* gibi diğer kültüre edilemeyen patojenlere (genel bakteriyel kültür sistemleriyle) immunodiagnostik ve moleküler teknikler ile daha iyi tanı konulabilir(108). Bu organizmaların çoğu enfektif endokarditten sorumlu olabilir, tanısı pozitif kan kültürü ve kardiyak kapak üzerindeki vegetasyonun saptanmasına dayanır(109). Bunların genellikle kan kültürü negatif endokardit vakalarında yer alması şaşkırtıcı değildir(110). Enfektif endokardit klinik tanısının desteklemede mikrobiyolojik kanıt zordur. Gerçekten laboratuvar prosedürlerin belirgin uygunluğuna rağmen enfektif endokardit şüpheli olguların %2,5- %31'inde kan kültürü negatiftir(111-113). Önceki antibiyotik kullanımı, suboptimal örnek toplanması veya yanlış preanalitik işlem gibi birçok faktörün varlığı enfektif endokardite neden olan stafilokok ve

streptokok gibi kolay üreyen patojenlerin olmasına rağmen yanlış negatif sonuçlar verebilir(114).

*d) Kesin tanının gerçekleştirilme süresi:* Otomatize cihazdan gelen pozitif bir sinyal sonrasında (genellikle 24-48 saatlik inkübasyonla) Gram boyama kan kültürü şişesinden direk olarak yapılır (Kirby- Bauer antibiogram ile antimikrobiyal duyarlılığın ön değerlendirilmesi ile beraber). Patojen daha sonra biyokimyasal testlerle tanımlanır. Hızlı fenotipik testler kan kültüründen elde edilen yaygın patojenlerin büyük bir yüzdesini tanımlayabilir (genellikle 18-24 saat içinde)(115). Ancak özellikle mantar veya anaeroplardan oluşan yavaş üreyen patojenlerin varlığında izolasyonun antimikrobiyal duyarlılığının saptanması, son tanımlama için daha fazla zamana ihtiyaç vardır(116).

### **2.8.2.2. Moleküler Yöntemler**

Bu bilgiler ışığında değerlendirirsek konvansiyonel yöntem olan kan kültürü ile zamanında sonuç alma oranı zayıftır, sensitivitesi düşüktür. Günümüzde hızlı tanımlama ve iş yükünün azaltılması amacıyla direk olarak kandan bakteriyel etkenlerin tanımlanması ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır. PCR teknikleri kullanılarak nükleik asit amplifikasyonu ile bakteriyemik hastalarda bakterilerin 16SRNA geninin amplifiye edilmektedir. Etkenin aynı gün içerisinde tespit edilmesi, majör direnç paternlerinin moleküler olarak saptanması oldukça heyecan vericidir(117). Bakteriyel ve fungal DNA için moleküler saptama teknikleri olan, tanının hızlanmasını sağlamak, sensitiviteyi artırmak ve kandaki patojenlerin saptanmasının klinik yararını artırmak için geliştirilen bu metodların şuan için yaygın kullanım alanı yoktur(98).

Moleküler yöntemler kan kültüründe üretilmeyen organizmaların saptanmasını sağlanması ve patojen tanımlama zamanını kısaltmasıyla yoğun bakım ünitesinde kalışın ve hospitalizasyonun kısalmasına katkıda bulunabilir, bununla birlikte mortaliteyi azaltabilir(118). Moleküler yöntemler bu konuda umut vaat eden testlerdir. Etken patojenin nükleik materyalini saptama esasına dayanan bu testler ile daha hızlı ve duyarlılığı daha yüksek sonuçlar elde etmek olasıdır. Sepsis düşünülen hastalarda hız ve duyarlılığın önemi düşünülecek olursa bu yöntemlerin rutinde uygulanabilir olabilmesinin değeri ortaya çıkacaktır. Bu araştırmada, sepsis düşünülen hastalarda konvansiyonel kan kültürü ile

moleküler yöntemlerin tanıdaki etkinliklerinin karşılaştırmalı olarak ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

### **3)GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1.Hastaların Belirlenmesi**

Bu prospektif çalışma Nisan 2014- Nisan 2015 tarihleri arasında ADÜ Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya, yattığı klinik ayrımı yapılmaksızın 'enfeksiyona bağlı SIRS(sepsis)' geliştiği düşünülen hastalar dahil edilmiştir. Sepsis ön tanılı hastaların son 1 hafta içerisinde antibiyoterapi alması dışlama kriteri olarak kabul edilmiştir.

#### **3.2.Hastalarla İlgili Bilgilerin Toplanması**

Çalışmaya alınan hastalara ait demografik (yaş, cinsiyet) ve klinik bilgiler; vital bulgular (ateş, tansiyon, nabız sayısı ve solunum sayısı), immünsüpresyon durumu ve ek komorbid durumlar (malignite, steroid kullanımı, kemoterapi ve radyoterapi öyküsü, hemodiyaliz), geçirilmiş operasyon bilgileri, yabancı cisim varlığı (üriner sonda, ventilatör, vasküler kateter) kaydedilmiştir.

Hastalara ait biyokimyasal [oksijenizasyon(FİO<sub>2</sub>), arteriyel pH, serum K<sup>+</sup>, serum Na<sup>+</sup>, üre, kreatinin, AST, ALT, kan laktat düzeyi, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] ve hematolojik [hemoglobin(gr/dl), hematokrit(%), lökosit (mm<sup>3</sup>/1000), nötrofil (%)]parametreler ile CRP ve PCT değerleri hastane içi elektronik bilgi işlem sisteminden elde edilerek kaydedilmiştir.

YBÜ'de yatan hastaların Glasgow koma skoru (GKS) ve APACHE II skoru kaydedilmiştir.APACHE II skorlama sistemi ile 12 fizyolojik parametre ile birlikte akut fizyolojik skor, yaş, daha önceki sağlık durumu ve GKS değerlendirilerek hastalık şiddeti belirlenmiştir. Fizyolojik parametreler 0-4 arasında puanlanırken, ölçülen GKS değeri 15'ten çıkartılarak elde edilen rakam skorlamada kullanılmıştır. Akut fizyolojik skorlamada rektal ateş, ortalama arterial basınç(OAB) (mmHg), nabız/dk, solunum/dk, oksijenizasyon(FİO<sub>2</sub>), arteriyel pH >7.7, serum K<sup>+</sup>, serum Na<sup>+</sup>, kreatinin, hematokrit(%), lökosit (mm<sup>3</sup>/1000), HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>'den oluşan 12 fizyolojik parametre kullanılmıştır. Yaş skorlamasında hastalar; ≤44 yaş, 45-54 yaş, 55-64 yaş, 65-74 yaş ve ≥75 yaş olarak beş

gruba ayrılıp, her birine puan verilmiştir. Daha önceki sağlık durumu ile ilgili organ yetmezliği (hepatik, kardiovasküler, renal, pulmoner) ve immunsupresyon durumu değerlendirilmiştir.

### **3.3.Örneklerin Alınması**

Çalışmaya dahil edilen hastalardan, farklı venlerden olmak üzere, 12'şer cc iki kan örneği alınmıştır. Bu miktarın 10 cc'si kan kültürü için, diğer iki cc'si DNA ekstraksiyonu için kullanılmıştır. Kan kültürü için ayrılan kısım kan kültürü şişesine, geri kalan iki cc lik kan örneği ise moleküler yöntem için kullanılmak üzere EDTA'lı tüpe konulmuştur. Kan örnekleri bütün hastalardan empirik antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmıştır. Alınan kan örnekleri ivedilikle ADÜ Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına ulaştırılmıştır.

### **3.4.Kan Kültürü**

Kan kültürü şişeleri BACTEC 9050 (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) kan kültürü cihazına 37°C'de beş gün inkübe edilmek üzere yerleştirilmiştir. Bu süreçte pozitif sinyal veren kan kültürlerin indirek mikroskopik incelemesi yapılarak işleme tabi tutulmuştur. Buna göre üreme sinyali alınan kan kültürü şişelerinden bir cc örnek kanlı agar, MacConkey Agar ve eğer boyama da fungal eleman görüldü ise Sabouraud Dextrose Agar'a ekimi yapılarak etüvde 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Üreyen mikroorganizmaların identifikasyonu ve adlandırılması için konvansiyonel tetkikler kullanılmıştır. Koyun kanlı agar ve MacConkey Agarda üreyen bakteriler Gram yöntemi ile boyandıktan sonra Gram-negatif ve Gram pozitif identifikasyon işlemlerine tabi tutulmuştur. Gram negatif çomakların identifikasyonunda dekstroz, laktoz, sükroz fermantasyonu, sitrat kullanımı, hareket, indol yapımı, üreaz ve ornitin dekarboksilaz aktivitesi ve oksidaz reaksiyonu kullanılmıştır. Gram-pozitif koklar ise katalaz reaksiyonu, koagülaz yapımı, hemoliz reaksiyonu, optokin, basitrasin duyarlılığı, safra eskülin ve %6.5 NaCl'de üremelerine göre identifiye edilmiştir. Konvansiyonel yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda ileri identifikasyon testi olan RapID™ (Remel) testlerine(RAPİD ID ONE, RAPİD ID NF, RAPİD ID YEAST PLUS KİT)başvurulmuştur. Toplam 5 günlük inkübasyon sonunda sinyal vermeyen kan kültürleri negatif olarak kabul edilmiştir.

### 3.5. 16S rRNA Amplifikasyonu:

#### 3.5.1. DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu için ticari kitlerden yararlanılmıştır. Instagen Matrix üretici firmanın direktifleri doğrultusunda kullanılmıştır. Kısaca, Enfeksiyon Hastalıkları Laboratuvarında EDTA'lı tüpe PCR için alınan kan örnekleri 4000 devirde 10 dk santrifüj edilmiş, serum kısmı atılıp, kalan kısım eppendorf tüplerine alınmış ve -20°C'de saklanmıştır. Bu örneklerden 50ul alınmış ve 200ul instagen matrix eklenmiştir. Daha sonra kan-intstagen matrix karışımı vortekslenmiş ve 56°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 10 saniye vortekslenen örnekler 100°C'de 8 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası yüksek devirde 10 saniye vortekslenen örnekler 5 dakika boyunca 14000 devirde santrifüj edilmiştir. Üst faz temiz steril bir eppendorf tüpüne aktarılmış ve fenol kloroform etanol ekstraksiyonu aşamasına geçilmiştir. Bu amaçla süpernatant üzerine 100ul distile steril su eklenmiştir. Bu karışımın üzerine 200ul fenol/kloroform/izoamilik alkol (25/24/1) eklenmiş ve vortekslenerek karıştırılmıştır. Sonra 13000 devirde 5 dakika santrifüj edilmiş ve üst faz temiz bir eppendorfa aktarılmıştır. Yaklaşık 200 ul olan üst faza 20 ul sodyum asetat (3M pH 5,2) eklenerek karıştırılmıştır. Bu karışım üzerine 200 ul soğuk izopropanol eklenmiştir. Karıştırıldıktan sonra 30 dk -20°C'de inkübe edilmiş ve sonrasında 30 dk +4°C'de 15000 devirde santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant atılmış ve pellet üzerine 200 ul %70'lik etanol eklenmiştir. Sonrasında beş dk 15000 devirde santrifüj edildikten sonra süpernatant atılmış ve pellet 30°C'de kurutulmuştur. Pellet 50ul distile su ile homojenize edilmiştir.

#### 3.5.2. PCR İçin Kullanılan Primerler

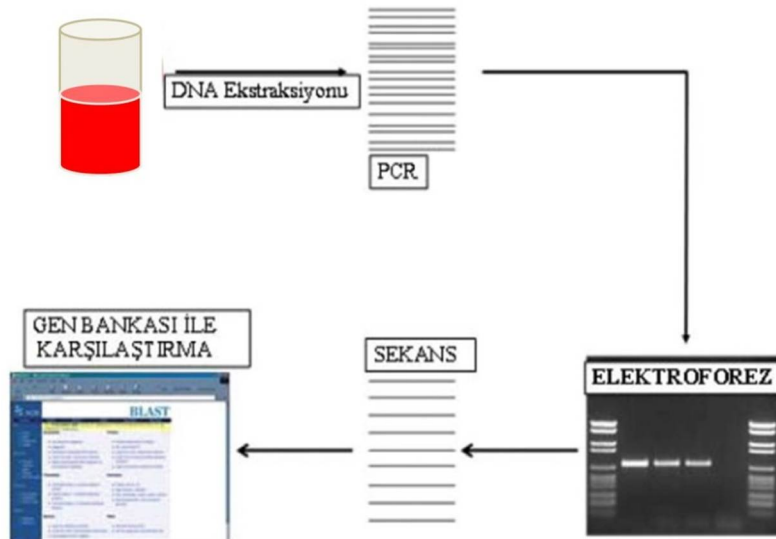
Örneklerden DNA ekstraksiyonunun yapıldığını göstermek için GJB2 ve GJB2b primerleri kullanılarak PCR yapılmıştır (Tablo VIII). Bu primerler ile insan hücrelerinde bulunan *gap junction beta 2* geni araştırılmıştır. PCR için final volüm 45 µl olacak şekilde master mix hazırlanmıştır. Taq buffer 5 µl, MgCl<sub>2</sub> 4 µl, dNTP mix 1 µl, GJB2 ve GJB2b primerlerinden 1'er µl ve Taq polimeraz 0.3 µl (ABM, Canada). Son olarak 5 µl ekstrakte edilen DNA eklenmiştir. Eppendorf tüpleri Thermal Cycler cihazına (Eppendorf mastercycler gradient), yerleştirilmiştir. 10 dakika 94 C°'de ilk denatürasyon yapıldıktan sonra, 35 siklus 94°C'de 30 sn, 50°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn tutulmuştur. Son olarak 7 dk 72°C'de

bekletilmiş ve +4 C’de tutulmuştur. Amplifiye edilen ürünler %2 agar (Sigma) içeren jelde 80 voltta bir saat süresince elektroforezle ayrıldıktan sonra ethidium bromide ile boyanmıştır. Jel görüntüleme sistemi ile görüntülenmiştir.

### 3.5.3. Reaksiyon Master Miksinin Hazırlanması

Kan örneğindeki bakteriyel DNA'nın çoğaltılması için tüm bakterilerde iyi korunmuş bölgelerden dizayn edilen üniversal 16S rRNA primerleri kullanılarak bakteri DNA'sı çoğaltılmıştır.

Bu gen içinde, tüm bakterilerde homolog olan bölgeler vardır. Bu bölgelerden seçilen üniversal denilen primerlerle 16S DNA'sı tüm bakterilerden çoğaltılabilir. Aradaki bölgeler ise, türe özgü farklılıklar taşıdığı için sekans analizi sonucu bakteri cinsi ve türünü tanılamamızı sağlamaktadır. DNA çoğaltmak için, 16S bölgesinin 20. ve 1390. bazları arasını çoğaltan 16S20 (5'AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3') ve 16S1390 (5' GACGGG CGG TGT GTA CAA 3') primerleri kullanılmıştır (Tablo VIII). PCR reaksiyonu için hazırlanan 25µl solüsyonda; 2mM MgCl<sub>2</sub>, 1X taq buffer, 0,2mM dNTP, 0,4pmol her iki primerden bulundurulmuştur. Bu solüsyona 1µl instagen ile hazırlanan DNA'dan eklenecek ve 0.2ml'lik tüpler içinde “thermal cycler” cihazına konulmuştur. Bu cihazdaki döngü programı şu şekilde ayarlanmıştır: 1 siklus 5 dakika 96°C sonrası 35 siklus 96°C 30 saniye, 50°C 30 saniye, 72°C 1 dakika tutulduktan sonra, 5 dakikalık 72°C lık tek siklusla tamamlanmıştır.



Şekil 3: 16S rRNA sekans analizi ile Gen Bankası karşılaştırma yöntemi ile tür tanılama

### 3.5.4.ITS Bölge Amplifikasyonu

Fungal DNA varlığı Daha sonra ITS3 ve ITS4 primerleri kullanılarak araştırılmıştır (Tablo VIII). PCR için final volüm 45 µl olacak şekilde karışım hazırlanmıştır; PCR buffer 6 µl, MgCl<sub>2</sub> 5 µl, dNTP mix 1 µl, ITS3 ve ITS4 primerleri herbirinden 5 µl, Taq polimeraz 0,25 µl. Son olarak 5 µl DNA eklenmiştir. Eppendorf tüpleri Thermal Cycler cihazına (Eppendorf mastercycler gradient) yerleştirilmiştir. 2 dakika 94°C’de ilk denatürasyon yapıldıktan sonra, 40 siklus 94°C’de 30 sn, 45°C’de 30 sn, 72°C’de 2 dk uygulanmıştır. Son olarak 10 dk 72°C’de bekletilmiş ve 4°C’de tutulmuştur. Amplifiye edilen ürünler %2 agar (Sigma) içeren jelde 80 volta 1 saat elektroforezle ayrıldıktan sonra ethidium bromide ile boyanmıştır. Jel görüntüleme sistemi ile görüntüler bilgisayara aktarılmış, bantlar değerlendirilmiştir.

**Tablo VIII.** Çalışmada kullanılacak primer listesi

Primer	5’→3’	Referans
GJB2 (CX26a24)	TCT TTT CCA GAG CAA ACC GCC	(119)
GJB2b (CX26b589)	GCC TTC GAT GCG GAC CTT C	
16S20	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	(120)
16S1390	GACGGGCGGTGTGTACAA	
ITS 3	GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC	(121)
ITS 4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	

## 4.BULGULAR

Çalışmamıza 116hasta dahil edilip, toplamda 232 kan örneği incelenmiştir. Hastaların 74 (%64)’ü erkek, 42 (%36)’si kadın idi. Hastaların yaşları 17- 90 (60,74 ±16.263)arasında değişmekte idi. Hastaların 67’si(%57,8) yoğun bakım ünitelerinde yatmakta iken, 49 (%42,2)’u yoğun bakım dışı kliniklerde yatmaktaydı. Yoğun bakım ünitelerindeki hastalar ağırlıklı olarak dahiliye yoğun bakım bölümünde tedavi görmekteydi (n:38, %32,8). Çalışmaya alınan hastaların kliniklere göre dağılımı Tablo IX 'da gösterilmiştir.

**Tablo IX.** Kan kültürü alınan hastaların kliniklere göre dağılımı

KLİNİK	N	%
Dahiliye yoğun bakım	38	32,8
Anestezi yoğun bakım	11	9,5
Enfeksiyon hastalıkları	13	11,2
Nefroloji	8	6,9
Hematoloji	5	4,3

Postoperatif cerrahi yoğun bakım	5	4,3
Endokrinoloji	5	4,3
Acil yoğun bakım	4	3,4
Onkoloji	4	3,4
Gastroenteroloji	4	3,4
Beyin cerrahisi yoğun bakım	3	2,6
Nöroloji yoğun bakım	3	2,6
Genel cerrahi	3	2,6
Genel dahiliye	3	2,6
Kalp damar cerrahisi yoğun bakım	2	1,7
Kardiyoloji	1	0,9
Nöroloji	1	0,9
Üroloji	1	0,9
Koroner yoğun bakım	1	0,9
Göğüs cerrahisi	1	0,9
Total	116	100,0

Çalışmadaki hastaların komorbid hastalıkları arasında en sık malignite (n: 40, %34,5) ve diabetes mellitus (n:34, %29,3)(n:26, %22,4) bulunmaktaydı. Hastaların komorbid hastalık dağılımı Tablo X’de gösterilmiştir.

**Tablo X.** Eşlik eden komorbid hastalıklar

<b>Değişken</b>	<b>N(%)</b>
Malignite	40 (35)
Diabetes mellitus	34 (29.3)
Kemoterapi	26 (22.4)
Hemodiyaliz	17 (14.7)
Steroid kullanımı	9 (7.8)
Radyoterapi	7 (6)

Hastaların 36(%31)’sı mekanik ventilasyon desteğinde entübe halde takip edilmekteydi.72(%62,1) hastada üriner kateter ve 34 (%29,3) hastada santral vasküler kateter (SVK) takılı idi.

Tüm hastalardan alınan toplam 232 şişe kan kültürünün 90 (%38,79)’nda üreme saptanmıştır (Tablo XI). Hasta bazında, toplam 55(%47,4)hastanın kan kültüründe üreme saptanmıştır. Bunların 35(%63,6)’inde her iki şişede birden üreme saptanırken, 20 (%36,4)’sinde tek şişede üreme olmuştur. Her iki şişede üreme saptanan hastaların 28

(%50,9)'inde aynı mikroorganizma üremiştir. Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların dağılımı yapıldığında en çok Gram pozitif bakteri üremesi (n:49, %54,44) saptanmış olup, bunları Gram negatif bakteriler (n:32, %35,56) ve *Candida spp.*(n:9, %9)türleri izlemiştir (Tablo XII).

**Tablo XI.**Hastalardan alınan kan kültürlerinde üreme oranları

	N	%
Üreme yok	142	61.21
Üreme var	90	38.79
Toplam	232	100

**Tablo XII.** Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların dağılımı

Üreme olanlar	N	%
Gram pozitif bakteriler	49	54.44
Gram negatif bakteriler	32	35,56
Candida türleri	9	9,0
Toplam	90	100

Üreyen mikroorganizmaların dağılımında toplam 15 ayrı mikroorganizma belirlenmiştir. En fazla üreyen mikroorganizmalar sırasıyla KNS(%43,3), *E.coli*(%10) ve *Candida spp.* (%10) idi. Etkenlere göre dağılım Tablo XIII'de gösterilmiştir.

**Tablo XIII.**Etkenlere göre dağılım

Mikroorganizma	N	%
<i>KNS</i>	39	43.3
<i>MRKNS</i>	34	37.8
<i>MSKNS</i>	5	5.5
<i>E. coli</i>	9	10
<i>Candida spp.</i>	9	10
<i>Candida albicans</i>	5	5.5
<i>Candida parapsilosis</i>	4	4.5
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	7	7.8
<i>Acinetobacter spp</i>	7	7.8

<i>Pseudomonas spp</i>	6	6.7
MSSA	4	4.5
<i>Enterococcus spp.</i>	3	3.3
<i>Proteus mirabilis</i>	2	2.2
<i>Non hemolitik streptokok</i>	1	1.1
<i>Corynebacterium spp</i>	1	1.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1.1
<i>D grubu streptokok</i>	1	1.1
Total	90	100

KNS: koagülaz negatif stafilkok, MRKNS: metisilin dirençli koagülaz negatif stafilkok

MSKNS: Metisilin duyarlı koagülaz negatif stafilkok, MSSA: Metisilin duyarlı *S.aureus*

Çalışmaya alınan 116 hastanın CRP değerleri en düşük 2mg/lt, en yüksek 477mg/lt; prokalsitonin değerleri ise en düşük 0,1ng/ml ve en yüksek 100 ng/ml olarak saptandı. Hastalardan kan kültüründe üreme olmayanlar ile her iki şişede aynı mikroorganizma üreyen gruplar arasında T-testi ile yapılan istatistiksel analizde CRP ve PCT değerleri arasında anlamlı farklılık saptandı ( $p<0.05$ ). (Tablo XIV- Tablo XV). Ayrıca, kan kültüründe üreme olmayan grup ( $r= +0.352$ ,  $p=0.005$ ) ve her iki şişede aynı mikroorganizma üreyen grupta ( $r= +0,400$ ,  $p=0,035$ ) CRP ve PCT arasında pozitif yönde orta düzeye yakın bir ilişki mevcuttur.

**Tablo XIV.**Kan kültüründe üremeye göre CRP (T-test)

CRP ( $p=0,012$ )	N	Ortalama $\pm$ SD
Kan kültüründe üreme olmayanlar	61	151,81 $\pm$ 92,773
İki şişede de aynı etken üreyenler	28	210,82 $\pm$ 115,955

**Tablo XV.**Kan kültüründe üremeye göre PCT(T-test)

PCT ( $p=0,015$ )	N	Ortanca(25% –75%)
Kan kültüründe üreme olmayanlar	61	2.0 (0,506- 7,09)
İki şişede de aynı etken üreyenler	28	6.35 (1,815- 34,75)

Yoğun bakımda takipli hastaların APACHE II skorları hesaplandı, kan kültüründe üreme olmayanlarda ortalama skor  $19,64 \pm 6.47$ , iki şişede aynı etken üreyen hastalarda  $24,86 \pm 7,98$  olarak daha yüksek bulundu. ( Tablo XVI).

**Tablo XVI.** Yoğun bakımda takipli hastaların Apache II skorları

APACHE II Skoru	Ortalama $\pm$ SD	Minimum	Maksimum
Kan kültüründe üreme olmayanlar	19,64 $\pm$ 6.47	4	29
Kan kültürünün herhangi birinde üreme olanlar	23,53 $\pm$ 7,69	7	39
İki şişede birden üreme olanlar	24,58 $\pm$ 7,86	7	39
İki şişede de aynı etken üreyenler	24,86 $\pm$ 7,98	7	39

Hastalardan kan kültürü ile eş zamanlı olarak her bir koldan EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinde moleküler yöntemle de etken araştırıldı. Moleküler yöntemde Klasik PCR tekniği kullanılarak DNA ekstraksiyonu sonrası universal primerlerle 16S rRNA geni çoğaltılmıştır. Ancak pozitif sonuç alınamamıştır. Gap junction geninin pozitif 16S rRNA geninin ise negatif olması örnekten DNA ekstraksiyonunun başarılı şekilde izole edildiğini göstermiştir.

## 5)TARTIŞMA

Sepsis, patojenlerle kişinin immün sistemi arasında ölümüne bir yarış olarak kabul edilebilir(3). Önemli bir sağlık sorunu olan sepsise bağlı mortalite sağlık bakımındaki tüm gelişmelere karşın halen yüksektir ve koroner YBÜ dışındaki YBÜ'lerdeki ölümlerin ikincisık nedenidir(4, 5).

Antimikrobiyal tedavinin hızlı ve doğru başlangıcı septik hastaların başarılı tedavisi için çok önemlidir. Sepsisli hastalarda kan kültürünün amacı identifikasyon, tiplendirme ve antibiyotik duyarlılık testi ile başlangıç empirik tedavisini optimize etmektir. Kan kültürü ile üreyen patojenden yapılan antimikrobiyal duyarlılık testi halen mevcut diğer tanısal testlerle yapılamamaktadır(98, 99).

Buna karşın kan kültürü yöntemlerinin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bu dezavantajların en önemlilerinden biri de sonuçların yeterince hızlı alınamamasıdır. Kültür şişesinde üreme saptanması sonrasında da mikroorganizmanın identifikasyonu için işlemler birkaç gün sürebilmektedir. Bu durumun, erken tedavinin yaşamsal öneme sahip olduğu sepsis hastalarında morbidite ve mortaliteyi artırdığı bilinmektedir(122, 123).

Kan kültür sistemlerindeki yetersizlikler nedeniyle sepsis tanısında başka metotlar gündeme gelmiştir. Bu yöntemlerden birisi, etken mikroorganizmanın moleküler yöntemlerle saptanmasını hedeflemektedir. Çalışmamız bu hedefe yönelik olup, hastanemizde yatan sepsis ön tanılı hastalardan alınan kan örneklerinden kültür ve PCR yöntemi karşılaştırılmıştır.

Hedefe yönelik çalışmamıza toplam 116 hasta dâhil edildi. Çalışmamızda sepsis ataklarında etken mikroorganizmayı saptama oranı kan kültürü ile %47,4 iken PCR ile pozitif sonuç alınmadı.

Çalışmamızda moleküler yöntemde DNA ekstraksiyonu sonrası universal primerlerle 16S rRNA geni çoğaltılmıştır. Gap junction geninin pozitif 16S rRNA geninin ise negatif olması örnekten DNA ekstraksiyonunun başarılı şekilde izole edildiğini göstermiştir. Örneklerden 16S rRNA geninin çoğaltılamaması ise yeterli bakteri DNAsı bulunmamasına bağlı olabilir. Literatür taramasında daha çok Multipleks real time PCR temelli yöntem olan SeptiFast yönteminin kullanıldığı görülmüştür. Kandan başarılı bir şekilde fragman çoğaltan Septifast yöntemi real time PCR ile türe spesifik genlerin varlığının araştırılması temeline dayanır. Septifast yöntemi real time yöntemi kullandığı için daha hassastır ve daha küçük miktarlardaki DNA varlığında pozitif sonuç verebilir. Bu çalışmada ise daha önce uygulanmamış olan klasik PCR ile amplifikasyon denenmiş ve sonrasında çoğaltılan fragmanın hangi türe ait olduğunun belirlenebilmesi için sekans yapılması planlanmıştır. Sekanslama pozitif sonuç bulunamadığı için yapılamamıştır.

Septifast kullanılarak yapılan birçok çalışmada PCR açısından umut verici durum bildirilmiştir (Tablo XVIII). Yapılan çalışmalarda kan kültürü pozitifliğinin %8-41, PCR pozitifliğinin %11-41 arasında değiştiği bildirilmektedir (Tablo XVII) (99, 124-133). Bu çalışmalarda etken yakalama konusunda SeptiFast yönteminin daha başarılı olduğu belirtilmiştir.

**Tablo XVII.** SeptiFast ile yapılan bazı çalışmalarda kan kültürü ve PCR pozitiflik oranları

	<b>Kan kültürü pozitifliği</b>	<b>SeptiFast pozitifliği</b>
N. Mancini ve ark. 2008	%20,4	%33
A. Vince ve ark. 2008	%20,5	%33,3
H. Westh ve ark. 2009	%17	%26
C. Dierkes ve ark. 2009	%24	%27
F. Wallet ve ark. 2009	%10	%15
F. Bloos ve ark. 2010	%16,5	%34,7

K. Yanagihara ve ark. 2010	%8,0	%11,3
B. Lucignano ve ark.2011	%10,3	%14,6
E. Tschiedel ve ark. 2012	%17	%24
M.V. Mauroa ve ark. 2012	%40,5	%40,5
U. Lodes ve ark. 2012	%20,3	%39,9

**Tablo-XVIII:** SeptiFast kullanılarak yapılan bazı çalışmalardaki kan kültürü ve PCR pozitifliğinin karşılaştırması(99, 124-126, 128, 131, 134, 135)

	Kan kültürü negatif	Kan kültürü pozitif	Kan kültürü pozitif	Kan kültürü negatif
	PCR pozitif	PCR negatif	PCR pozitif	PCR negatif
N.Mancini ve ark. 2008	%14	%1	%19	%66
A. Vince ve ark. 2008	%23	%10	%10	%57
C. Dierkes ve ark. 2009	%14	%9	%14	%63
Westh ve ark. 2009	%14	%3	%11	%72
F. Bloos ve ark. 2010	%22	%3	%13	%62
M. Avolio ve ark. 2010	%7	%9	%21	%63
E. Tschiedel ve ark. 2012	%13	%6	%11	%70
K. Grif ve ark 2012	%16,9	%5,63	%5,67	%71,8

Sepsise neden olan etkenlerin dağılımında hastaneler arasında değişen oranlar söz konusudur. Gram negatif bakterilerin %20-64, Gram pozitif bakterilerin %27-74 arasında etken olduğu bildirilmektedir(17). Başka çalışmalarda kan kültürlerinde Gram pozitif bakteri üreme oranı %59-70 ve Gram negatif bakteri üreme oranı %24-37 arasında değişmektedir(136-138). Çalışmamızda da benzer şekilde Gram pozitif bakteri üreme oranı %54,44, Gram negatif bakteri üreme oranı %35,56 olarak bulunmuştur. Bu çalışmalarda en sık izole edilen bakteriler bizim çalışmamızda da olduğu üzere *E. coli* ve koagülaz negatif stafilokoklardır.

Birçok çalışmada Grampozitif bakteriler içerisinde KNS en sık izole edilen etken olup, izolasyon oranı % 40-50 arasındadır(137, 139). ABD’de SCOPE ve Nosocomial Infections Surveillance (NNIS)’ın çalışmalarında da nozokomiyal bakteriyemilerde en önemli etkeni KNS olarak bildirmektedir (140). Europa Prevalence Infection Committee (EPIC) verileri de benzer şekildedir(141). Çalışmamızda da saptandığı üzere izole edilen bakterilerin neredeyse yarısının KNS’lerden oluşuyor olmasının tartışılması gerekmektedir. KNS’lerin çoğunluğunun gerçek bir bakteriyemiden çok kontaminasyon olarak bulunduğu ve bu sonuçların yorumunun klinisyenlerce zor olduğu bildirilmektedir (10). Yapılan çalışmalarda sıklıkla izole edilen KNS’lerin %62-80’i kontaminant olarak değerlendirilmektedir (142). Bu

bakterilerin normal cilt florasında buldukları ve kolayca kolonize olabildikleri göz önüne alınarak kan kültürü alınırken uygulanması gereken kurallar gözden geçirilmeli, optimum standardizasyon sağlanmalıdır. İzole edilen KNS'lerin patojen olarak kabul edilebilmesi için aynı hastadan farklı venlerden olmak üzere iki veya daha fazla sayıda aynı etkenin üremesi ya da tek şişe üremesi durumunda hastada KNS enfeksiyonu için risk faktörlerinin bulunması gerekmektedir. Bizim çalışmamızda alınan 232 kan kültürü şişesinin 90'ında (%38,79) mikroorganizma üremesi saptanmış olup bunlardan beşi (%5,5) MSKNS ve 34'ü (%37,8) MRKNS olmak üzere 39 (%43,33) kan kültürü şişesinde KNS türü bakteriler üretilmiştir. Çalışmamızdaki 116 kişinin 27'sinde bir yada iki şişede KNS üremesi saptandı. Bunlardan 10 kişide ise her iki şişesinde de antibiyotik duyarlılıklarına göre aynı KNS üretildi ve bu 10 kişinin sadece dördünde (sekiz şişe) kateter kaynaklı enfeksiyon olabileceği düşünülerek etken olarak kabul edildi. Fakat diğer altı kişide üreyen aynı duyarlılık paternine sahip KNS'lar için etken olabilecek bir odak saptanmadı. Toplamda 31 (%79,49) şişe KNS üremesinin ise kontaminasyon ihtimalinin yüksek olduğu düşünüldü. Buradan da anlaşılacağı gibi kan kültüründe KNS üremesinde hastaya göre karar verilmeli, klinik ve laboratuvar veriler göz önünde bulundurulmalı ve gereksiz olarak antibiyoterapi başlanmamalıdır. Çalışmamızda en sık etken olarak KNS saptanması hastanemizde halen kan kültürü alınırken gereken antisepsi kurallarına yeterince uyulmadığını ve bu konu ile ilgili gerekli sürveyans çalışmaları ve eğitim seminerlerine daha çok ağırlık verilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Kan kültürlerinde üreyen KNS sıklığı diğer çalışmalar ile uyumlu olmakla birlikte çalışmamızda etken olarak ortaya koyduğumuz *S.aureus* oranları düşük (%4,5) saptanmıştır. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda kan kültüründe *S.aureus* oranlarını Öksüz ve ark.(143) tarafından %25, Tunçbilek ve ark.(144) tarafından %30, Yılmaz ve ark.(145) tarafından ise %15,5 olarak saptamışlardır.

*Candida* türlerine bağlı sepsis oranlarında son yıllarda artışlar bildirilmektedir. Çeşitli çalışmalarda kandan izole edilen kandidaların oranı %2,3-25 olarak bildirilmiştir (146, 147). Uzun süreli antibiyotik kullanımı, immün sistemi baskılayıcı tedaviler, malignite, kateter kullanımı ve hastanede yatış süresinin uzunluğu kandidemilerdeki artışın en önemli nedenleri arasındadır (148). Çalışmamızda kandidemi oranı %9,67 (beş hasta) olarak bulunmuştur. Kandidemi saptanan hastaların tümü yoğun bakımda yatmakta olup tümünde bahsedilen risk faktörleri bulunmaktaydı.

Yayınlara bakıldığında *S.aureus*'da metisilin direnci %11'lerden %25-45'lere çıkmıştır. Kan kültürlerinden izole edilen *S.aureus*'larda metisilin direnci ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda; Kaya ve ark. (149) %58,3; Mehli ve ark. (137)%38,46; Tuncer ve ark.(150) %48,2 olarak bildirmişlerdir. Köksal ve ark. yaptıkları çalışmada kan örneklerinden izole edilen KNS ve *S. aureus* kökenlerinde metisilin direnç oranları sırasıyla %56 ve %51 olarak saptamıştır(151). Reymolds ve ark. metisilin direncini *S. aureus* kökenlerinde % 58, KNS kökenlerinde ise %24 olarak saptamışlardır(152). Öksüz ve ark. ise metisilin direncini *S. aureus* kökenlerinde % 58, KNS kökenlerinde ise %78 olarak saptamışlardır(143). Bizim çalışmamızda ise dikkat çekici bulgulardan biri alınan kan kültürlerinin hiçbirisinde metisilin dirençli *S.aureus* izole edilmemesidir. KNS suşlarında ise %87'sinde metisilin direncine rastlanmıştır.

Sepsisli hastalarda PCT'nin iyi bir belirteç olduğu ortaya konmuştur. Sağlıklı erişkinlerde serum düzeyi 0,1 ng/ml'nin altındadır (83). Sepsis için sınır değer 2 ng/ml, septik şok için ise 11,6 ng/ml olarak belirlenmiştir. Ancak şok tablosukesinleşmiş hastalarda prokalsitonin >5 ng/ml ise etyolojinin enfeksiyonu düşündürmesi gerektiği bildirilmektedir(81). PCT düzeyi artışı ile bakteriyel enfeksiyon arasında genel olarak bir korelasyon olsa da, lokal enfeksiyon (üriner yol gibi) veya bazı ağır sepsis vakalarında PCT'nin yanlış negatif sonuçlar verebileceği akılda tutulmalıdır (153).

CRP enfeksiyona özgü bir belirteç değildir. Fakat bakteriyel enfeksiyonlarda en yüksek seviyeye ulaşması nedeniyle enfeksiyon tanısında kullanım alanı söz konusudur. Ayrıca, inflamasyon ve doku hasarının çözünmesini takiben CRP düzeylerinin hızlı bir şekilde düşmesi bakteriyel enfeksiyonlarda CRP'nin tedaviye yanıtı değerlendirmek için kullanılmasını sağlamıştır(80). Sağlıklı erişkinlerde plazma seviyesi 10 mg/lt'nin altındadır. Sepsis tanısında optimal CRP üst sınır değeri kesin olarak belirlenmemiş olmakla beraber, 50-100 mg/lt yaygın kabul gören değerleridir, ancak tek bir ölçüm tanıda yeterli olamayabilmektedir(81).

CRP prokalsitoninle karşılaştırıldığında:

- PCT enfeksiyon sırasında CRP'den daha hızlı artarmakta ve daha hızlı azalmaktadır. Buna karşın, sistemik belirtileri olmayan enfeksiyonlarda prokalsitonin artmazken CRP değerlerinin artışı söz konusudur.(154).

- PCT genel olarak CRP'ye göre enfeksiyon tanısında daha sensitif ve spesifiktir. Bu yüzden PCT CRP'ye kıyasla enfeksiyonda daha prognostik bir belirteçtir (154).

• PCT'in CRP'den daha kısa yarı ömrü vardır. Bu da enfeksiyon sırasında antibiyotiğe olan cevabın daha iyi takibini sağlamaktadır(154).

•PCT viral ve otoimmün rahatsızlıklarda yükselmezken CRP'de artış görülmektedir(154).

Çalışmamızda CRP değeri kan kültüründe üreme olmayan hastalarda ortalama 151,8 mg/lt, iki şişe kan kültüründe aynı etken üreyen hastalarda 210,8 mg/lt olarak saptanmıştır. Prokalsitonin değerlerine bakıldığında kan kültüründe üreme olmayan hastalarda ortanca değeri 2,0 ng/ml, iki şişe kan kültüründe aynı etken üreyen hastalarda 6,35 ng/ml olarak bulunmuştur. Kan kültüründe üreme olmayan grup ve her iki şişede aynı mikroorganizma üreyen grupta CRP ve PCT arasındapozitif yönde orta düzeye yakın bir ilişki saptanmıştır.

Meisner ve ark. çalışmalarında YBÜ'de takip edilen 90 multipl travmalı hastada PCT ve CRP değerleri arasında inflamasyon, komplikasyon ve mortalite açısından korelasyonunu incelemiştir. Çalışma sonucuna göre, PCT düzeyinin travma ciddiyetini, posttravmatik komplikasyonları, yüksek sıklıkta enfeksiyonu, kötü prognozu, YBÜ'de uzun kalışı gösterme açısından daha değerli bulunmuştur(155).

Al-nawas ve ark. yapmış oldukları çalışmada sepsis şüphesi olan 337 hastadan sadece SIRS tanılı hastalarda PCT değeri ortalamasını 0,6 ng/ml olarak bulmuşlardır. Bunun yanında sepsis kriterlerini karşılayan 122 hastada PCT değeri ortalamasını bu değer yaklaşık 10 katı, septik şok tanısı alan hastalardaki PCT değeri ortalamasını da bu değer yaklaşık 50 katı olarak ölçmüşlerdir(156). Bizim çalışmamızda ise PCT değeri kan kültüründe üreme olmayanlarda normal üst sınır değerinin yaklaşık dört katı, iki şişe kan kültüründe aynı etken üreyenlerde ise yaklaşık 13 katı değerde ölçülmüştür.

Ugarte ve ark. 31 yataklı dahili ve cerrahi yoğun bakımı olan bir üniversite hastanesinde 190 ardışık erişkin hastada yaptıkları çalışmada hastaların 111'ine hastane kökenli enfeksiyon tanısı koymuşlar ve enfeksiyonu olan ve olmayan hastaları karşılaştırdıklarında PCT ve CRP değerleri arasında enfekte grupta daha yüksek değerler ölçmüşler ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğunu saptamışlardır. Bu çalışma sonucunda araştırmacılar klinik ve bakteriyolojik bulguların enfeksiyon tanısında vazgeçilmez ilk basamak olması gerektiğini belirtmişler, PCT'nin ise CRP'nin yüksek olduğu durumlarda doğrulama amaçlı kullanılabileceğini savunmuşlardır(157). Rothenburger ve ark. kalp cerrahisi sonrasında enfeksiyon gelişiminin erken belirteci olarak PCT ve CRP değerlerini başlangıç değerlerine göre yüksek olarak ölçmüşler, yüzeysel cerrahi alan

enfeksiyonu olan hastalarda PCT değerinin CRP'ye göre daha az yükseldiğini, enfeksiyon gelişmeyen hastalarda ise CRP'nin yükseldiğini ancak PCT'nin anlamlı yükseklik göstermediğini belirlemişlerdir. Bu alışma sonucunda enfeksiyonun belirlenmesinde Ugarte ve arkadaşlarının aksine PCT'nin daha anlamlı olduğunu CRP'nin ise doğrulama amaçlı kullanılması gerektiğini ileri sürmüşlerdir(158). Bu çalışmalardan farklı olarak bizim çalışmamızdaki hastaların tümü enfeksiyona bağlı SIRS geliştiği düşünülen hastalardan oluşması saptanan yüksek CRP ve PCT değerlerini açıklamaktadır. Bakteriyemi saptanan hastalarda anlamlı yükseklik farkı saptanmasa da bu değerleri eşiklendirmek zor görünmektedir. Yine de PCT, bu anlamda PCT değeri daha değerlendirilebilir görünmektedir.

Çalışmamıza benzer şekilde, Müler ve ark. iç hastalıkları YBÜ'de 101 hastada yapmış oldukları çalışmada hastaların %58'ine sepsis tanısı koymuşlar ve bakteriyel etkenin saptandığı grup ile etkenin saptanamadığı grupta PCT ve CRP değerlendirmelerini karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda her iki belirtecin de bu durumda normal değere göre yüksek olduğunu ölçmekle birlikte PCT'nin tanısal güvenilirliğinin CRP'ye göre daha iyi olduğu belirtilmiştir(159).

## 6)SONUÇ

PCR temelli moleküler yöntemlerle daha önce yapılmış çalışmalarla kıyaslandığında çalışmamızda hiç bir örnekten PCR pozitifliğine rastlanmadı. Bunun nedeni olarak diğer çalışmalardan farklı bir PCR yöntemi olan klasik PCR yönteminin kullanılmış olmasını düşünmekteyiz. Çalışmamızda kullanılan klasik PCR yöntemi ile örneklerden 16S rRNA geninin çoğaltılamaması ise yeterli bakteri DNAsı bulunmamasına bağlı olabilir. Amplikonlardan nested PCR ile 16S rRNA geninin daha küçük fragmanlarının elde edilebilmesi mümkün olabilir ya da daha önceki çalışmalarda kullanılan Multipleks real time PCR temelli yöntemlerle PCR çalışılması uygun olacaktır.

Çalışmamızda izole edilen bakterilerin neredeyse yarısının KNS'lardan oluşuyor olması ve bu bakterilerin normal florada bulunan bakteriler olup kolayca kolonize olabildikleri göz önüne alınarak kan kültürü alınırken uygulanması gereken kurallar gözden geçirilmeli, optimum standardizasyon sağlanması için eğitim seminerlerinin daha sık verilmesi gerektirdiğini düşündürmektedir.

PCT'nin CRP ile korelasyon gösterdiği, bakteriyel enfeksiyon göstergesi olarak PCT ve CRP düzeyleri organ disfonksiyonunun şiddeti ile ilişkili olarak klinik gözlemde

kullanılabileceği, her iki belirteç için farklı duyarlılık ve kinetik oluştuğu için, maliyetinde göz önünde bulundurularak klinik kullanımda bunların da akılda tutulması gerektiği bilinmelidir.

## 7)ÖZET

### **Sepsis Tanısında Moleküler Yöntemlerin Konvansiyonel Yöntemler ile Karşılaştırılması**

Sepsis, birçok sistemi tutan, özellikle hemodinamik değişikliklere yol açabilen, şok, organ fonksiyon bozukluğu ve yetmezliğine kadar gidebilen öldürücü bir enfeksiyon hastalığıdır. Tüm tıbbi gelişmelere karşın sepsis halen yüksek mortalite ile seyreden bir klinik tablodur. Erken tanı ve tedavi prognozu olumlu yönde belirleyen en önemli etmendir. Etkeni belirleme konusunda günümüzde en sık kullanılan test kan kültürüdür; ancak etkinliği istenilen düzeylerde değildir. Moleküler tetkikler bu konuda geleceği olan uygulamalardır. Bu çalışmada moleküler yöntemlerden polimeraz zincir reaksiyonuyönteminin, sepsis tanısındaki etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamıza sepsis tanısı konulan 116 hasta dahil edilip, toplamda 232 kan örneği incelenmiştir. Hastaların 74 (%64)'ü erkek, 42 (%36)'si kadın idi. Hastaların yaşları 17- 90 (60,74 ±16.263) arasında değişmekte idi. Çalışmamızda sepsis ataklarında etken mikroorganizmayı saptama oranı kan kültürü ile %47,4 iken PCR ile pozitif sonuç alınmadı. Tüm hastalardan alınan toplam 232 şişe kan kültürünün 90 (%38,79)'nda üreme saptanmıştır.

Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların dağılımı yapıldığında en çok Gram pozitif bakteri üremesi (n:49, %54,44) saptanmış olup, bunları Gram negatif bakteriler (n:32, %35,56) ve *Candida spp.*(n:9, %9)türleri izlemiştir. En fazla üreyen mikroorganizmalar sırasıyla KNS (%43,3), *E.coli*(%10) ve *Candida spp.* (%10) idi.

Çalışmamızda hiç bir örnekte PCR pozitifliğine rastlanmamasının nedeni olarak, daha önce yapılmış diğer çalışmalardan farklı bir PCR yöntemi olan klasik PCR yönteminin kullanılmış olmasını düşünmekteyiz. Çalışmamızda kullanılan klasik PCR yöntemi ile örneklerden 16S rRNA geninin çoğaltılamaması ise yeterli bakteri DNAsı bulunmamasına bağlı olabilir. Amplikonlardan nested PCR ile 16S rRNA geninin daha küçük fragmanlarının elde edilebilmesi mümkün olabilir ya da daha önceki çalışmalarda kullanılan Multipleks real time PCR temelli yöntemlerle PCR çalışılması uygun olacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Sepsis, moleküler, PCR, kan kültürü

**Adres:** Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim dalı

## **8)SUMMARY**

### **Comparison With Conventional Methods In Molecular Methods In The Sepsis Diagnosis**

Sepsis is a multisystem disease, typically leading to hemodynamic changes, shock, organ dysfunction and organ failure and can be life threatening. Despite all medical advances, sepsis is still a clinical entity associated with high mortality. Early diagnosis and treatment is the most important factor in determining prognosis in a positive way. The most widely used test to identify the etiology is blood culture; but efficiency is not at the desired level. Molecular tests are the future applications in this regard. In this study, the efficacy of the molecular polymerase chain reaction was investigated in comparison to blood culture for to identify the causative microorganism of sepsis.

116 patients diagnosed as sepsis were included in the study and a total number of 232 blood samples were examined. 74 of the patients were male (64%) and the other 42 were female (36%). Age of the patients ranged between 17 to 90 ( $60.74 \pm 16,26$ ). While the ratio of blood culture positivity was 47.4%, there was no positive results with PCR. A total of 232 blood cultures were collected and positivity was detected in 90 (38.79%) bottles. Gram positive isolates were the most isolated microorganisms followed by Gram negative bacteria and *Candida* spp. The most commonly isolated microorganisms were coagulase negative staphylococci (43.3%), *E.coli* (10%) and *Candida* spp. (10%).

The negative results of PCR detected in the study is thought to be the result of the used PCR method. The low DNA levels in samples is the probable reason for the negative results of classical PCR. Nested PCR or multiplex real time PCR methods which may detect small fragments of 16S rRNA would be more suitable for molecular detection of microorganisms.

**Key words:** Sepsis, molecular, PCR, blood culture.

Address: Adnan Menderes University Faculty of Medicine, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Department, Aydin

## 9)KAYNAKLAR

1. Balk RA. Severe sepsis and septic shock. Definitions, epidemiology, and clinical manifestations. *Crit Care Clin* 2000;16:179-92.
2. Bone RC. Sepsis and Septic Shock. *Infectious Disease* 1993. p. 5-25.
3. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2013;13:862-74.
4. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013;369:840-51.
5. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med* 2013;41:580-637.
6. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992;20:864-74.
7. Yorgancı K, Sayek İ. Sepsis ve ilgili tanımlamalar. *Yoğun Bakım Dergisi* 2005;5:75-9.
8. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003;31:1250-6.
9. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 2005;6:2-8.
10. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:444-65.
11. Seifert H. The clinical importance of microbiological findings in the diagnosis and management of bloodstream infections. *Clin Infect Dis* 2009;48 Suppl 4:S238-45.
12. Loeffler J, Hebart H, Bialek R, Hagemeyer L, Schmidt D, Serey FP et al. Contaminations occurring in fungal PCR assays. *J Clin Microbiol* 1999;37:1200-2.
13. Safdar A, Rodriguez GH, Balakrishnan M, Tarrand JJ, Rolston KV. Changing trends in etiology of bacteremia in patients with cancer. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006;25:522-6.
14. Yagupsky P, Nolte FS. Quantitative aspects of septicemia. *Clin Microbiol Rev* 1990;3:269-79.

15. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992;101:1644-55.
16. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med* 2008;36:296-327.
17. Doğanay M, Alp Meşe E. Sepsis. In: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M editors. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi İstanbul*; 2008. p. 877-97.
18. Duane J, Funk MD, Joseph EP, Anand K. Sepsis and Septic Shock: A History. *Crit Care Clin* 2009;25:83-101.
19. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word "sepsis". *Intensive Care Med* 2006;32:2077.
20. author N. Sepsis History. In: Society GS editor; 2013.
21. Baron RM, Baron MJ, Perrella MA. Pathobiology of sepsis: are we still asking the same questions? *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006;34:129-34.
22. Francoeur JR. Joseph Lister: surgeon scientist (1827-1912). *J Invest Surg* 2000;13:129-32.
23. Balk R. Roger C. Bone, MD and the evolving paradigms of sepsis. *Contrib Microbiol* 2011;17:1-11.
24. Aube H, Milan C, Blettery B. Risk factors for septic shock in the early management of bacteremia. *Am J Med* 1992;93:283-8.
25. Doğanay M. Gram negatif bakteri sepsislerinde patogenezi ve tedavi. In: Tumbay E, Ang O, Karakartal G editors. *Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi. İzmir*; 1987. p. 48.
26. Bellissant E, Annane D. Effect of hydrocortisone on phenylephrine--mean arterial pressure dose-response relationship in septic shock. *Clin Pharmacol Ther* 2000;68:293-303.
27. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001;344:699-709.
28. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29:1303-10.

29. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001;409:307-12.
30. Kusminski CM, McTernan PG, Kumar S. Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci (Lond)* 2005;109:243-56.
31. Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;300:472-6.
32. Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine RV et al. Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes* 2001;50:2199-202.
33. Lehrke M, Reilly MP, Millington SC, Iqbal N, Rader DJ, Lazar MA. An inflammatory cascade leading to hyperresistinemia in humans. *PLoS Med* 2004;1:e45.
34. Silswal N, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyay S, Ghosh S, Ehtesham NZ. Human resistin stimulates the pro-inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-12 in macrophages by NF-kappaB-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;334:1092-101.
35. Lu SC, Shieh WY, Chen CY, Hsu SC, Chen HL. Lipopolysaccharide increases resistin gene expression in vivo and in vitro. *FEBS Lett* 2002;530:158-62.
36. Bottazzi B, Garlanda C, Cotena A, Moalli F, Jaillon S, Deban L et al. The long pentraxin PTX3 as a prototypic humoral pattern recognition receptor: interplay with cellular innate immunity. *Immunol Rev* 2009;227:9-18.
37. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003;111:1805-12.
38. Doni A, Mantovani G, Porta C, Tuckermann J, Reichardt HM, Kleiman A et al. Cell-specific regulation of PTX3 by glucocorticoid hormones in hematopoietic and nonhematopoietic cells. *J Biol Chem* 2008;283:29983-92.
39. Garlanda C, Bottazzi B, Bastone A, Mantovani A. Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility. *Annu Rev Immunol* 2005;23:337-66.
40. Napoleone E, Di Santo A, Bastone A, Peri G, Mantovani A, de Gaetano G et al. Long pentraxin PTX3 upregulates tissue factor expression in human endothelial cells: a novel link between vascular inflammation and clotting activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:782-7.
41. He X, Han B, Bai X, Zhang Y, Cypel M, Mura M et al. PTX3 as a potential biomarker of acute lung injury: supporting evidence from animal experimentation. *Intensive Care Med* 2010;36:356-64.

42. Cinel I, Opal SM. Molecular biology of inflammation and sepsis: a primer. *Crit Care Med* 2009;37:291-304.
43. Abraham E, Singer M. Mechanisms of sepsis-induced organ dysfunction. *Crit Care Med* 2007;35:2408-16.
44. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348:1546-54.
45. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med* 2002;28:108-21.
46. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med* 2006;34:344-53.
47. Uzun O, Akalin HE, Hayran M, Unal S. Factors influencing prognosis in bacteremia due to gram-negative organisms: evaluation of 448 episodes in a Turkish university hospital. *Clin Infect Dis* 1992;15:866-73.
48. Aygen B, Kayabaş Ü, Güven M, Doğanay M, Sümerkan B, Yıldız O. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yoğun Bakım Üniteleri nozokomiyal enfeksiyonları surveyansı: epidemiyoloji, risk faktörleri ve prognozu etkileyen faktörler. *Yoğun Bakım Dergisi* 2001;1:122 - 30.
49. Kurt C. Sepsis ile ilişkili tanımlar, epidemiyoloji, insidans ve klinik. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi etkinlikleri. İstanbul; 2006. p. 17 - 26.
50. Matot I, Sprung CL. Definition of sepsis. *Intensive Care Med* 2001;27 Suppl 1:S3-9.
51. Sands KE, Bates DW, Lankester PN, Graman PS, Hibberd PL, Kahn KL et al. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. *JAMA* 1997;278:234-40.
52. Finfer S, Bellomo R, Lipman J, French C, Dobb G, Myburgh J. Adult-population incidence of severe sepsis in Australian and New Zealand intensive care units. *Intensive Care Med* 2004;30:589-96.
53. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J. Bacteremia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in ICUs and wards of 24 hospitals. French Bacteremia-Sepsis Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:617-24.
54. Martin MA, Silverman HJ. Gram-negative sepsis and the adult respiratory distress syndrome. *Clin Infect Dis* 1992;14:1213-28.
55. Franson TR, Hierholzer WJ, Jr., LaBrecque DR. Frequency and characteristics of hyperbilirubinemia associated with bacteremia. *Rev Infect Dis* 1985;7:1-9.

56. Uzun Ö. Sepsiste Empirik Tedavi Yaklaşımı. In: Akalın HE, Kanra G editors. Empirik Antibiyotik Tedavisi Kitabı. Ankara; 1994. p. 175 - 86.
57. Ansoy A. Septisemi. Petek 2001;1:99 - 107.
58. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. Ann Intern Med 1991;115:457-69.
59. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. JAMA 2009;302:2323-9.
60. Cohen J, Cristofaro P, Carlet J, Opal S. New method of classifying infections in critically ill patients. Crit Care Med 2004;32:1510-26.
61. Güler H, Akalın H, Heper Y, Yılmaz E, Sınırtaş M, Öztürk Ç et al. Toplum Kökenli Sepsis: 125 Olgunun Retrospektif Değerlendirmesi. Flora 2010;15:11 - 5.
62. Esel D, Doganay M, Alp E, Sumerkan B. Prospective evaluation of blood cultures in a Turkish university hospital: epidemiology, microbiology and patient outcome. Clin Microbiol Infect 2003;9:1038-44.
63. Esper AM, Moss M, Lewis CA, Nisbet R, Mannino DM, Martin GS. The role of infection and comorbidity: Factors that influence disparities in sepsis. Crit Care Med 2006;34:2576-82.
64. Friedman G, Silva E, Vincent JL. Has the mortality of septic shock changed with time. Crit Care Med 1998;26:2078-86.
65. Moss M. Epidemiology of sepsis: race, sex, and chronic alcohol abuse. Clin Infect Dis 2005;41 Suppl 7:S490-7.
66. Mayr FB, Yende S, Linde-Zwirble WT, Peck-Palmer OM, Barnato AE, Weissfeld LA et al. Infection rate and acute organ dysfunction risk as explanations for racial differences in severe sepsis. JAMA 2010;303:2495-503.
67. Sharshar T, Annane D, de la Grandmaison GL, Brouland JP, Hopkinson NS, Françoise G. The neuropathology of septic shock. Brain Pathol 2004;14:21-33.
68. Reinhart K. Diagnosis of sepsis. Novel and conventional parameters. Minerva Anesthesiol 2001;67:675-82.
69. Lynn WA. Sepsis. In: Armstrong D, Cohen J editors. Infectious Diseases. London; 2004. p. 613 - 27.
70. Munford RS. Sepsis, severe sepsis and septic shock. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia; 2005. p. 906 - 26.

71. Bick RL. Disseminated intravascular coagulation. Objective criteria for diagnosis and management. *Med Clin North Am* 1994;78:511-43.
72. Munford RS, Suffrendini AF. Sepsis, severe sepsis and septic shock. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R editors. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. New York; 2010. p. 987 - 1010.
73. Sprung CL, Peduzzi PN, Shatney CH, Schein RM, Wilson MF, Sheagren JN et al. Impact of encephalopathy on mortality in the sepsis syndrome. The Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperative Study Group. *Crit Care Med* 1990;18:801-6.
74. Bertsch T, Casarin W, Kretschmar M, Zimmer W, Walter S, Sommer C et al. Protein S-100B: a serum marker for ischemic and infectious injury of cerebral tissue. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:319-23.
75. Basler T, Meier-Hellmann A, Bredle D, Reinhart K. Amino acid imbalance early in septic encephalopathy. *Intensive Care Med* 2002;28:293-8.
76. Marik PE. Definition of sepsis: not quite time to dump SIRS? *Crit Care Med* 2002;30:706-8.
77. Aouifi A, Piriou V, Bastien O, Blanc P, Bouvier H, Evans R et al. Usefulness of procalcitonin for diagnosis of infection in cardiac surgical patients. *Crit Care Med* 2000;28:3171-6.
78. Reny JL, Vuagnat A, Ract C, Benoit MO, Safar M, Fagon JY. Diagnosis and follow-up of infections in intensive care patients: value of C-reactive protein compared with other clinical and biological variables. *Crit Care Med* 2002;30:529-35.
79. Rosen H, Sunnerhagen KS, Herlitz J, Blomstrand C, Rosengren L. Serum levels of the brain-derived proteins S-100 and NSE predict long-term outcome after cardiac arrest. *Resuscitation* 2001;49:183-91.
80. Clyne B, Olshaker JS. The C-reactive protein. *J Emerg Med* 1999;17:1019-25.
81. Mitaka C. Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. *Clin Chim Acta* 2005;351:17-29.
82. Vigushin DM, Pepys MB, Hawkins PN. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J Clin Invest* 1993;91:1351-7.
83. Carrol ED, Thomson AP, Hart CA. Procalcitonin as a marker of sepsis. *Int J Antimicrob Agents* 2002;20:1-9.
84. Gendrel D, Bohuon C. Procalcitonin as a marker of bacterial infection. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:679-87; quiz 88.

85. Maisner M. Procalcitonin: a new, innovative infection parameter. Biochemical and clinical aspects. New York; 2000. p. 1 - 196.
86. Oczenski W, Fitzgerald RD, Schwarz S. Procalcitonin: a new parameter for the diagnosis of bacterial infection in the peri-operative period. *Eur J Anaesthesiol* 1998;15:202-9.
87. Ortatlı M, Özgüven V, Şengül A. Sepsis ve ağır enfeksiyonların tanı ve takibinde yeni bir belirteç: Prokalsitonin. *Flora* 1999;4:151 - 5.
88. Maruna P, Nedelnikova K, Gurlich R. Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiol Res* 2000;49 Suppl 1:S57-61.
89. Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004;39:206-17.
90. Limper M, de Kruif MD, Duits AJ, Brandjes DP, van Gorp EC. The diagnostic role of procalcitonin and other biomarkers in discriminating infectious from non-infectious fever. *J Infect* 2010;60:409-16.
91. Hatzistilianou M. Diagnostic and prognostic role of procalcitonin in infections. *ScientificWorldJournal* 2010;10:1941-6.
92. Becker KL, Snider R, Nysten ES. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations. *Crit Care Med* 2008;36:941-52.
93. Bolton CF, Young GB, Zochodne DW. The neurological complications of sepsis. *Ann Neurol* 1993;33:94-100.
94. Llewelyn M, Cohen J. Diagnosis of infection in sepsis. *Intensive Care Med* 2001;27 Suppl 1:S10-32.
95. Mylotte JM, Tayara A. Blood cultures: clinical aspects and controversies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:157-63.
96. Sümerkan B. Nozokomiyal sepsis: etyoloji ve mikrobiyolojik tanısı. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 1998;2:182 - 7.
97. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis* 1997;24:584-602.
98. Mancini N, Carletti S, Ghidoli N, Cichero P, Burioni R, Clementi M. The era of molecular and other non-culture-based methods in diagnosis of sepsis. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:235-51.

99. Westh H, Lisby G, Breysse F, Boddington B, Chomarat M, Gant V et al. Multiplex real-time PCR and blood culture for identification of bloodstream pathogens in patients with suspected sepsis. *Clin Microbiol Infect* 2009;15:544-51.
100. Josefson P, Stralin K, Ohlin A, Ennefors T, Dragsten B, Andersson L et al. Evaluation of a commercial multiplex PCR test (SeptiFast) in the etiological diagnosis of community-onset bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011;30:1127-34.
101. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:432-8.
102. Dark P, Blackwood B, Gates S, McAuley D, Perkins GD, McMullan R et al. Accuracy of LightCycler((R)) SeptiFast for the detection and identification of pathogens in the blood of patients with suspected sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med* 2015;41:21-33.
103. Kollef MH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ. Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. *Chest* 1999;115:462-74.
104. 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;34:1589-96.
105. CLSI. Principles and procedures for blood cultures. PA: Wayne; 2007.
106. Tenney JH, Reller LB, Mirrett S, Wang WL, Weinstein MP. Controlled evaluation of the volume of blood cultured in detection of bacteremia and fungemia. *J Clin Microbiol* 1982;15:558-61.
107. Schwetz I, Hinrichs G, Reisinger EC, Krejs GJ, Olschewski H, Krause R. Delayed processing of blood samples influences time to positivity of blood cultures and results of Gram stain-acridine orange leukocyte Cytospin test. *J Clin Microbiol* 2007;45:2691-4.
108. Fenollar F, Raoult D. Molecular diagnosis of bloodstream infections caused by non-cultivable bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2007;30 Suppl 1:S7-15.
109. Durack DT, Lukes AS, Bright DK. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. *Am J Med* 1994;96:200-9.
110. Prendergast BD. The changing face of infective endocarditis. *Heart* 2006;92:879-85.

111. Hoen B, Selton-Suty C, Lacassin F, Etienne J, Briancon S, Leport C et al. Infective endocarditis in patients with negative blood cultures: analysis of 88 cases from a one-year nationwide survey in France. *Clin Infect Dis* 1995;20:501-6.
112. Lamas CC, Eykyn SJ. Blood culture negative endocarditis: analysis of 63 cases presenting over 25 years. *Heart* 2003;89:258-62.
113. Watkin RW, Lang S, Lambert PA, Littler WA, Elliott TS. The microbial diagnosis of infective endocarditis. *J Infect* 2003;47:1-11.
114. Breitkopf C, Hammel D, Scheld HH, Peters G, Becker K. Impact of a molecular approach to improve the microbiological diagnosis of infective heart valve endocarditis. *Circulation* 2005;111:1415-21.
115. CLSI. Abbreviated identification of bacteria and yeast. PA: Wayne; 2008.
116. Beekmann SE, Diekema DJ, Chapin KC, Doern GV. Effects of rapid detection of bloodstream infections on length of hospitalization and hospital charges. *J Clin Microbiol* 2003;41:3119-25.
117. Peters RP, van Agtmael MA, Danner SA, Savelkoul PH, Vandembroucke-Grauls CM. New developments in the diagnosis of bloodstream infections. *Lancet Infect Dis* 2004;4:751-60.
118. Liesenfeld O, Lehman L, Hunfeld KP, Kost G. Molecular diagnosis of sepsis: New aspects and recent developments. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)* 2014;4:1-25.
119. Scheuller MC, Murr AH, Goldberg AN, Mhatre AN, Lalwani AK. Quantitative analysis of fungal DNA in chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2004;114:467-71.
120. Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson GR, Collins MD et al. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl Environ Microbiol* 1999;65:4799-807.
121. Fujita S, Lasker BA, Lott TJ, Reiss E, Morrison CJ. Microtitration plate enzyme immunoassay to detect PCR-amplified DNA from *Candida* species in blood. *J Clin Microbiol* 1995;33:962-7.
122. Bauer M, Reinhart K. Molecular diagnostics of sepsis--where are we today? *Int J Med Microbiol* 2010;300:411-3.
123. Carrigan SD, Scott G, Tabrizian M. Toward resolving the challenges of sepsis diagnosis. *Clin Chem* 2004;50:1301-14.
124. Bloos F, Hinder F, Becker K, Sachse S, Mekontso Dessap A, Straube E et al. A multicenter trial to compare blood culture with polymerase chain reaction in severe human sepsis. *Intensive Care Med* 2010;36:241-7.

125. Dierkes C, Ehrenstein B, Siebig S, Linde HJ, Reischl U, Salzberger B. Clinical impact of a commercially available multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis. *BMC Infect Dis* 2009;9:126.
126. Mancini N, Clerici D, Diotti R, Perotti M, Ghidoli N, De Marco D et al. Molecular diagnosis of sepsis in neutropenic patients with haematological malignancies. *J Med Microbiol* 2008;57:601-4.
127. Lucignano B, Ranno S, Liesenfeld O, Pizzorno B, Putignani L, Bernaschi P et al. Multiplex PCR allows rapid and accurate diagnosis of bloodstream infections in newborns and children with suspected sepsis. *J Clin Microbiol*;49:2252-8.
128. Tschiedel E, Steinmann J, Buer J, Onnebrink JG, Felderhoff-Muser U, Rath PM et al. Results and relevance of molecular detection of pathogens by SeptiFast--a retrospective analysis in 75 critically ill children. *Klin Padiatr* 2012;224:12-6.
129. Yanagihara K, Kitagawa Y, Tomonaga M, Tsukasaki K, Kohno S, Seki M et al. Evaluation of pathogen detection from clinical samples by real-time polymerase chain reaction using a sepsis pathogen DNA detection kit. *Crit Care* 2010;14:R159.
130. Mauro MV, Cavalcanti P, Perugini D, Noto A, Sperli D, Giraldi C. Diagnostic utility of LightCycler SeptiFast and procalcitonin assays in the diagnosis of bloodstream infection in immunocompromised patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;73:308-11.
131. Vince A, Lepej SZ, Barsic B, Dusek D, Mitrovic Z, Serventi-Seiwerth R et al. LightCycler SeptiFast assay as a tool for the rapid diagnosis of sepsis in patients during antimicrobial therapy. *J Med Microbiol* 2008;57:1306-7.
132. Wallet F, Nseir S, Baumann L, Herwegh S, Sendid B, Boulo M et al. Preliminary clinical study using a multiplex real-time PCR test for the detection of bacterial and fungal DNA directly in blood. *Clin Microbiol Infect* 2010;16:774-9.
133. Lodes U, Bohmeier B, Lippert H, Konig B, Meyer F. PCR-based rapid sepsis diagnosis effectively guides clinical treatment in patients with new onset of SIRS. *Langenbecks Arch Surg* 2012;397:447-55.
134. Grif K, Fille M, Wurzner R, Weiss G, Lorenz I, Gruber G et al. Rapid detection of bloodstream pathogens by real-time PCR in patients with sepsis. *Wien Klin Wochenschr* 2012;124:266-70.
135. Avolio M, Diamante P, Zamparo S, Modolo ML, Grosso S, Zigante P et al. Molecular identification of bloodstream pathogens in patients presenting to the emergency department with suspected sepsis. *Shock* 2010;34:27-30.
136. Duman Y, Kuzucu Ç, Çuğlan S. Kan kültürlerinden izole edilen bakteriler ve antimikrobiyal duyarlılıkları. *Erciyes Tıp Derg* 2011;33:189 - 96.

137. Mehli M, Gayyurhan E, Zer Y, Akgün S. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *İnfeksiyon Derg* 2007;21:141 - 5.
138. Yüce P, Demirdağ K, Kalkan A, Özden M, Denk A, Kılıç SS. Kan kültürlerinde izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Derg* 2005;19:17 - 21.
139. Willke A, Azak E. Kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları: üç yıllık sonuçlar. *Ankem Derg* 2011;25:1.
140. Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clin Infect Dis* 1999;29:239-44.
141. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA* 1995;274:639-44.
142. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:788-802.
143. Öksüz Ş, Yavuz T, Şahin İ, Yıldırım M, Akgünoğlu M, Kaya D et al. Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2008;38:117-21.
144. Tunçbilek S, N. B, Eren N, Öztürk S. Pozitif Kan Kültürlerinin Değerlendirilmesi ve Klinik Önemi *Türk Hij Gen biol Derg* 1999;56:1-4.
145. Yılmaz N, Köse Ş, Ağuş N, Ece G, Akkoçoğlu G, Kıraklı C. Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastaların Kan Kültürlerinde Üreyen Mikroorganizmalar, Antibiyotik Duyarlılıkları Ve Nozokomiyal Bakteriyemi Etenkenleri. *ANKEM Derg* 2010;24:12-9.
146. Durmaz G, Us T, Aydınli A, Kiremitci A, Kiraz N, Akgun Y. Optimum detection times for bacteria and yeast species with the BACTEC 9120 aerobic blood culture system: evaluation for a 5-year period in a Turkish university hospital. *J Clin Microbiol* 2003;41:819-21.
147. Ener B, Sınırtaş M, Akalın H. Nozokomiyal kandidemi etkenlerinin retrospektif analizi. *İnfek Derg* 1998;12:85 - 8.
148. Yapar N, Şener A, Kuruüzüm Z, Yücesoy M, Yüce A. Bir üniversite hastanesinde bir yıllık dönemde izlenen invazif fungal infeksiyonların değerlendirilmesi. *KLİMİK Derg* 2005;18:67 - 70.
149. Kaya S, Arıdoğan CB, Çetin H, Demirci M. Çocuk hastalardan alınan kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik dirençleri. *Fırat Tıp Dergisi* 2007;12:34-6.

150. Tuncer İ, Kalem F, Çoşar M, Arslan U. Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bloodstream infections. . *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2009;39:22 - 6.
151. Köksal F, Samastı M. Kan kültürlerinden izole edilen stafilkoklardaantibiyotik direnci. *ANKEM Derg* 2002;16:10-3.
152. Reynolds R, Potz N, Colman M, Williams A, Livermore D, MacGowan A. Antimicrobial susceptibility of the pathogens of bacteraemia in the UK and Ireland 2001-2002: the BSAC Bacteraemia Resistance Surveillance Programme. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:1018-32.
153. Monneret G, Labaune JM, Isaac C, Bienvenu F, Putet G, Bienvenu J. Procalcitonin and C-reactive protein levels in neonatal infections. *Acta Paediatr* 1997;86:209-12.
154. Whicher J, Bienvenu J, Monneret G. Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann Clin Biochem* 2001;38:483-93.
155. Meisner M, Adina H, Schmidt J. Correlation of procalcitonin and C-reactive protein to inflammation, complications, and outcome during the intensive care unit course of multiple-trauma patients. *Crit Care* 2006;10:R1.
156. Al-Nawas B, Krammer I, Shah PM. Procalcitonin in diagnosis of severe infections. *Eur J Med Res* 1996;1:331-3.
157. Ugarte H, Silva E, Mercan D, De Mendonca A, Vincent JL. Procalcitonin used as a marker of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med* 1999;27:498-504.
158. Rothenburger M, Markewitz A, Lenz T, Kaulbach HG, Marohl K, Kuhlmann WD et al. Detection of acute phase response and infection. The role of procalcitonin and C-reactive protein. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:275-9.
159. Muller B, Becker KL, Schachinger H, Rickenbacher PR, Huber PR, Zimmerli W et al. Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in a medical intensive care unit. *Crit Care Med* 2000;28:977-83.