



**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**STERİL VÜCUT SIVILARINDAN ÜRETİLEN ETKENLERİN HIZLI
ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TEST SONUÇLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Hatice Şeyma BAYKUŞ
UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**SİVAS
2024**



**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Steril Vücut Sıvılarından Üretilen Etkenlerin Hızlı Antibiyotik
Duyarlılık Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi**

**Dr. Hatice Şeyma BAYKUŞ
UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**Prof. Dr. Atifet Yasemin ÖZTOP
DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ**

**SİVAS
2024**

ONAY SAYFASI

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakóltesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Üye: Prof. Dr. Ömer POYRAZ

Üye: Prof. Dr. Zeynep SÜMER

Üye (Danışman): Prof. Dr. Atifet Yasemin ÖZTOP

Bu tez, tarih ve sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hilmi ATASEVEN

Tıp Fakóltesi Dekanı



Bu tez Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu’nun 10/02/2010 tarih ve 2010/1-2 sayılı kararı ile kabul edilen ve yürürlüğe giren “Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesi’ne göre hazırlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitim sürecimde bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, tez yazım sürecimdeki katkılarından ötürü tez danışmanım sayın Prof. Dr. A. Yasemin ÖZTOP'a,

Asistanlığım süresince benimle her türlü bilgisini, desteğini paylaşan Laboratuvar sorumlusu hocam Dr. Öğr. Üyesi Mürşit HASBEK'e,

Bana eğitimim süresince katkıları olan değerli hocalarım Prof. Dr. Ömer POYRAZ, Prof. Dr. Zeynep SÜMER, Prof. Dr. Ahmet ALİM, Prof. Dr. Cem ÇELİK, Doç. Dr. A. Hümeysra TAŞKIN KAFA'ya,

Tez projemize maddi destekte bulunan Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (CÜBAP)'ne,

Beraber aynı yolda yürüdüğümüz uzman olmuş ve asistanlık eğitimine devam eden hekim arkadaşlarıma,

Desteklerini, sevgilerini hiçbir zaman benden esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşlerime,

Ve her koşulda yanımda olan sevgili eşim Hasan BAYKUŞ'a teşekkür ederim.

Dr. Hatice Şeyma BAYKUŞ

SİVAS 2024

ÖZET

Steril Vücut Sıvılarından Üretilen Etkenlerin Hızlı Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Dr. Hatice Şeyma BAYKUŞ,

Tıbbi Mikrobiyoloji A.B.D. Sivas 2024

Amaç: Steril vücut sıvılarında üreyen mikroorganizmalar sepsise yol açarak, hastalarda mortalite ve morbidite artışına sebep olmaktadır. Sepsis tanısını hızlıca koyarak etkeni belirlemek ve hızlı antibiyotik duyarlılık sonuçlarının belirlenmesi önemlidir. Çalışmamızda steril sıvı kültürlerinde üreyen etkenlere hızlı tanımlama ve hızlı antibiyotik testleri yapılarak sonuçların standart testlerle karşılaştırılması amaçlandı.

Yöntem: Çalışmada Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına Ekim 2023 – Şubat 2024 tarihleri arasında gelen 199 steril sıvı örneği incelendi. BACTEC/FX otomatize cihazında inkübasyona bırakılan ve üreme sinyali veren 153 kan kültürü şişelerindeki etkenlerin Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrofotometresi (MALDI-TOF MS) kullanılarak hızlı tanımlaması ve EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) hızlı antibiyotik duyarlılık testleri (HADT) yapıldı. Ayrıca *E.coli* ve *K.pneumoniae* saptanan örneklerle EUCAST genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi (GSBL) tarama testi uygulandı. Kültür şişelerinde üreyen kolonilerin rutin laboratuvar yöntemlerle tanımlaması ve disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı. Hızlı tanımlama ve HADT sonuçları, rutin tanımlama ve referans antibiyotik duyarlılık testi (disk difüzyon) sonuçlarıyla karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışmada üreyen izolatların, 52'si *E.coli*, 31'i *K.pneumoniae*, 9'u *P.aeruginosa*, 4'ü *A.baumannii*, 45'i *S.aureus*, 8'i *E.faecalis* ve 4'ü *E.faecium*'du. Bu izolatlardan 142'si kan kültürlerinden 11'i diğer steril sıvı kültürlerinden izole edildi. Hızlı tanımlama yöntemiyle izolatların %58,8'i (s=90) tür düzeyinde, %97,3'ü

(s=149) cins düzeyinde doğru olarak tanımlandı. Gram negatif bakterilerde hızlı tanımlama yönteminin başarısı (%100), gram pozitif bakterilere (%93) göre daha yüksekti. HADT yönteminde inhibisyon zon çaplarının okunabilme oranları, 4. 6. 8. inkübasyon saatlerinde sırasıyla, %96,4, %99,9 ve %100, teknik belirsizlik alanında kalan (ATU) sonuçların oranları sırasıyla, %12,8, %7,9, %6,2 olarak bulundu. HADT'in kategorik uyumları 4., 6. ve 8. saatte sırasıyla, %95,1, %96,0 ve %96,1 olarak hesaplandı. Örneklerden en yüksek oranda izole edilen toplam *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının HADT sonuçları standart disk difüzyon yöntemi sonuçlarıyla karşılaştırıldı. HADT'in her üç inkübasyon saatinde amikasin ve meropenem ait hata oranlarının, 6. saatten itibaren siprofloksasin, seftazidim avibaktam ve piperasilin tazobaktam ait hata oranlarının FDA kriterlerine uyduğu [testin kategorik uyumunun (KU) $\geq$ %90, çok büyük hata (ÇBH) oranının $\leq$ %1,5, büyük hata (BH) oranının $\leq$ %3,0 ve küçük hata (KH) oranının $<$ %10 olması] bulundu. Test edilen diğer antibiyotiklerin; (ampisilin, amoksisilin klavulanik asit, seftazidim, sefotaksim, imipenem, levofloksasin, trimetoprim sulfametoksazol, gentamisin ve tobramisin) FDA kriterlerini karşılamadığı görüldü. Toplam *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının kombine disk difüzyon testiyle 47'si, HADT ile 45'i GSBL pozitif bulundu.

Sonuç: Standart testle karşılaştırılması yapılabilen türlere ait HADT sonuçlarında bazı antibiyotikler/bakteri türleri için HADT yönteminin uygulanabilir olduğu, bazı antibiyotiklere ait ÇBH oranlarının yüksek bulunması nedeniyle testin daha fazla örnekle çalışılarak rutin laboratuvar için geliştirilmesi sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Steril vücut sıvıları, hızlı tanımlama, EUCAST, hızlı antibiyotik duyarlılık testi (HADT)

ABSTRACT

Evaluation of Rapid Antibiotic Susceptibility Test Results of Agents Produced from Sterile Body Fluids

Dr. Hatice Şeyma BAYKUŞ,

Department of Medical Microbiology, Sivas 2024

Objective: Microorganisms grown in sterile body fluids cause sepsis, leading to increased mortality and morbidity in patients. It is important to rapidly diagnose sepsis, identify the causative agent and determine rapid antibiotic susceptibility results. In our study, we aimed to perform rapid identification and rapid antibiotic tests for the agents grown in sterile fluid cultures and to compare the results with standard tests.

Method: In the study, 199 sterile fluid samples received to Sivas Cumhuriyet University Medical Faculty Hospital Medical Microbiology laboratory between October 2023 and February 2024 were examined. Rapid identification and EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) rapid antibiotic susceptibility tests (RAST) were performed using Matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrophotometry (MALDI-TOF MS) of the causative agents in 153 blood culture bottles that were incubated in the BACTEC/FX automated device and gave a growth signal. In addition, EUCAST ESBL screening test was applied to the samples in which *E.coli* and *K.pneumoniae* were detected. The colonies grown in the culture bottles were identified by routine laboratory methods and antibiotic susceptibility tests were performed by disc diffusion method. Rapid identification and RAST results were compared with routine identification and reference antibiotic susceptibility test (disc diffusion) results.

Results: Among the isolates, 52 were *E.coli*, 31 were *K.pneumoniae*, 9 were *P.aeruginosa*, 4 were *A.baumannii*, 45 were *S.aureus*, 8 were *E.faecalis* and 4 were *E.faecium*. Of these isolates, 142 were isolated from blood cultures and 11 from other sterile fluid cultures. By rapid identification method, 58.8% (n=90) of the isolates were correctly identified at species level and 97.3% (n=149) at genus level. The

success of the rapid identification method was higher in gram negative bacteria (100%) than in gram positive bacteria (93%). The readability rates of inhibition zone diameters in the RAST method were 96.4%, 99.9% and 100% at the 4th, 6th, and 8th incubation hours, respectively, and the rates of results in the area of technical uncertainty (ATU) were 12.8%, 7.9% and 6.2%, respectively. The categorical agreement of RAST was 95.1%, 96.0% and 96.1% at 4th, 6th and 8th hours, respectively. RAST results of total *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates, which were isolated from the samples with the highest rates, were compared with the results of standard disc diffusion method. It was found that the error rates of amikacin and meropenem in all three incubation hours of the RAST and the error rates of ciprofloxacin, ceftazidime avibactam and piperacillin tazobactam from the 6th hour onwards met the FDA criteria (categorical agreement (CA) of the test $\geq 90\%$, very large error (VME) rate $\leq 1.5\%$, large error (ME) rate $\leq 3.0\%$ and small error (mE) rate $< 10\%$). Other antibiotics tested (ampicillin, amoxicillin clavulanic acid, ceftazidime, cefotaxime, imipenem, levofloxacin, trimethoprim sulfamethoxazole, gentamicin and tobramycin) did not meet FDA criteria. Of the total *E.coli* and *K.pneumoniae* isolates, 47 were found to be extended-spectrum beta lactamase enzyme (ESBL) positive by combined disk diffusion test and 45 by RAST.

Conclusion: It was concluded that the RAST method was applicable for some antibiotics/bacterial species in the RAST results of the species that could be compared with the standard test, and that the test should be developed for the routine laboratory by working with more samples due to the high rates of VME for some antibiotics.

Keywords: Sterile body fluids, rapid identification, EUCAT, rapid antibiotic susceptibility testing (RAST)

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	i
ONAY SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
TABLOLAR DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Steril Vücut Sıvıları.....	3
2.1.1. Kan Dolaşımı Enfeksiyonu	3
2.1.2 Kan kültürü.....	4
2.1.3 Mikrobiyoloji Laboratuvarında Otomatize Sistemle Üreme Sinyali Veren Kan Kültürü Şişelerinin Değerlendirilmesi.....	6
2.2. Beyin Omurilik Sıvısı.....	6
2.3. Plevral Sıvı	8
2.4. Eklem Sıvısı	10
2.5. Periton Sıvısı	11
2.6. Steril Vücut Sıvılarında Üreyen Etkenlerin Tanımlanması.....	12
2.6.1. Konvansiyonel Yöntemlerle Bakteri Tanımlanması	13
2.6.2. Otomatize Sistemlerle Bakteri Tanımlanması.....	15
2.6.3. MALDI-TOF MS ile Bakteri Tanımlanması.....	16
2.7. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	16
2.7.1. Disk Difüzyon Yöntemi	16
2.7.2. Gradient Şerit Yöntemi	17
2.7.3. Dilüsyon Yöntemleri	18
2.7.4. Otomatize Sistemler	19
2.7.5. Hızlı Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	19

2.8. <i>Enterobacteriaceae</i> Üyelerinde Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) Varlığının Saptanması	21
2.8.1. GSBL Tarama Testleri	21
2.8.2. GSBL Fenotipik Doğrulama Testleri	21
3. MATERYAL VE METHOD.....	23
3.1. Araç, Gereç ve Malzemeler.....	23
3.2. Çeşitli Kimyasallar, Çözeltiler	24
3.3. Kullanılan Besiyerleri.....	24
3.4. Antibiyotik Diskleri (Bioanalyse, Türkiye).....	24
3.5. Yöntemler.....	24
3.5.1. Çalışmaya Alınan Örneklerle uygulanan işlemler.....	24
3.5.2. Steril sıvı kültürlerinde üreyen bakterilerin rutin mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlanması	26
3.5.3. Steril sıvı kültürlerinde üreyen bakterilerin Tween® 80 Ekstraksiyonu ile Hızlı Tanımlama Protokolü Uygulanarak Tanımlanması	26
3.5.4. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	27
3.5.5. HADT Yönteminin Uygulanması	27
3.5.6. Disk Difüzyon Antibiyotik Duyarlılık Yönteminin Uygulanması	32
3.5.7. Kombine Disk Difüzyon Yöntemiyle <i>E.coli</i> ve <i>K.pneumoniae</i> izolatlarında GSBL Üretiminin Doğrulanması.....	32
3.5.8. Otomatize Sistem ile (Phoenix) Antibiyotik Duyarlılık Testinin Uygulanması	32
3.6. Verilerin Değerlendirilmesi.....	33
4. BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA.....	70
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	79
7. KAYNAKLAR.....	83

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATU	: Teknik belirsizlik alanında
BH	: Büyük hata
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CLSI	: Clinical laboratory standards institute
CÜBAP	: Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
ÇA	: Çikolata agar
ÇBH	: Çok büyük hata
EMB	: Eosin metilen blue agar
EUCAST	: European committee on antimicrobial susceptibility testing
GSBL	: <i>Enterobacteriaceae</i> Üyelerinde Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
H₂O	: Su
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HADT	: Hızlı antibiyotik duyarlılık testi
KDE	: Kan dolaşımı enfeksiyonları
KH	: Küçük hata
KKA	: Koyun kanlı agar
LDH	: Laktat dehidrogenaz
MAC	: MacConkey agar
MALDI-TOF MS	: Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş zamanı kütle spektrofotometresi
MHA	: Mueller hinton agar

MIK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
O₂	: Oksijen
PYR	: Pirolidil- β -naftilamid
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
R	: Dirençli
S	: Duyarlı
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SPSS	: Statistical package for the social sciences

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. BOS normal değerleri ve menenjit tiplerindeki değişiklikler.....	8
Tablo 2.2. Plevral efüzyon için transuda eksuda ayırımı.....	9
Tablo 2.3. Transuda ve eksuda nedenleri.....	10
Tablo 3.1. HADT’inde kullanılan antibiyotikler.....	28
Tablo 3.2. <i>E.coli</i> ’ye ait HADT sınır değer tablosu.....	29
Tablo 3.3. <i>K.pneumoniae</i> ’ ya ait HADT sınır değer tablosu	29
Tablo 3.4. <i>P.aeruginosa</i> ’ ya ait HADT sınır değer tablosu	30
Tablo 3.5. <i>A.baumannii</i> ’ ye ait HADT sınır değer tablosu.....	30
Tablo 3.6. <i>S.aureus</i> ’a ait HADT sınır değer tablosu	30
Tablo 3.7. <i>E.faecalis</i> ’e ait HADT sınır değer tablosu.....	31
Tablo 3.8. <i>E.faecium</i> ’a ait HADT sınır değer tablosu.....	31
Tablo 3.9. <i>E.coli</i> ve <i>K.pneumoniae</i> için HADT GSBL tarama eşik değerleri.....	31
Tablo 4.1. Steril vücut sıvı örneklerinden üretilen bakteri izolatlarının dağılımı.....	34
Tablo 4.2. Steril sıvı kültürlerinde üreyen izolatların hızlı tanımlama yöntemiyle tür ve cins düzeyinde doğru tanımlanma oranları.....	35
Tablo 4.3. Kan ve diğer steril sıvı izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması	37
Tablo 4.4. <i>E.coli</i> izolatlarının HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemle yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları	39
Tablo 4.5. <i>E.coli</i> HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması.....	41
Tablo 4.6. <i>K.pneumoniae</i> izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları	43

Tablo 4.7. <i>K.pneumoniae</i> izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması.....	45
Tablo 4.8. <i>E.coli</i> ve <i>K.pneumoniae</i> izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması.....	47
Tablo 4.9. <i>P.aeruginosa</i> izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	48
Tablo 4.10. <i>P.aeruginosa</i> izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması.....	50
Tablo 4.11. <i>A.baumannii</i> izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	51
Tablo 4.12. <i>A.baumannii</i> izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması.....	52
Tablo 4.13. <i>S.aureus</i> izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	53
Tablo 4.14. <i>S.aureus</i> izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması.....	54
Tablo 4.15. <i>E.faecalis</i> izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	55
Tablo 4.16. <i>E.faecalis</i> izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması.....	56
Tablo 4.17. <i>E.faecium</i> izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	57
Tablo 4.18. <i>E.faecium</i> izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması.....	58
Tablo 4.19. EUCAST HADT yöntemiyle GSBL taraması sonuçlarının referans yöntemle karşılaştırılması.....	59

Tablo 4.20. <i>E.coli</i> -ertapenem HADT ve disk difüzyon sonuçları.....	60
Tablo 4.21. <i>E.coli</i> -seftriakson HADT ve disk difüzyon sonuçları.....	63
Tablo 4.22. <i>K.pneumoniae</i> -ampisilin HADT ve disk difüzyon sonuçları.....	64
Tablo 4.23. <i>K.pneumoniae</i> -ertapenem HADT ve disk difüzyon sonuçları.....	66
Tablo 4.24. <i>K.pneumoniae</i> -seftriakson HADT ve disk difüzyon sonuçları.....	68



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. HADT nin 4-6-8. inkübasyon saatlerinde fotoğraflanan plak görünümleri (bir <i>E.coli</i> izolatının örnek görünümü).....	37
Şekil 4.2. <i>S.aureus</i> 'a ait 4. 6. ve 8. inkübasyon saatlerindeki plak görüntüsü.....	54
Şekil 4.3. <i>E.coli</i> -ertapenem hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı.....	61
Şekil 4.4. <i>E.coli</i> -seftriakson hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı.....	62
Şekil 4.5. <i>K.pneumoniae</i> -ampisilin hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı.....	65
Şekil 4.6. <i>K.pneumoniae</i> -ertapenem hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı.....	67
Şekil 4.7. <i>K.pneumoniae</i> -seftriakson hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı.....	69

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kan, beyin omurilik sıvısı (BOS), plevra sıvısı, perikard sıvısı, eklem sıvısı, periton sıvısı ve amniyon sıvısı steril vücut sıvıları olarak nitelendirilir. Kan dolaşımı, santral sinir sistemi (SSS), eklem boşluğu, plevral boşluk gibi vücut bölgelerinin herhangi birinin enfeksiyonu, genellikle hayatı tehdit edici özelliktedir ve uygun olmayan veya geç kalınan antimikrobiyal tedavi morbidite ve mortalitenin artmasına neden olur.

Sepsis, bir enfeksiyon sırasında düzensiz konak yanıtıyla gelişen, akut organ disfonksiyonu olarak tanımlanır. Sepsis, yüksek ölüm riskiyle ilişkilendirilmiş karmaşık bir hastalıktır ve bu durumun önlenmesi için acil tedaviye ihtiyaç vardır. Sepsisin tanısı, mikrobiyoloji laboratuvarlarında enfeksiyona neden olan etkenin tanımlanmasıyla konulur. Doğru tanı sonrasında uygun antibiyotik tedavisi hastalarda komplikasyon ve ölüm riskini azaltmaktadır [1, 2].

Sepsiste uygun antibiyotik tedavisi alamayan hastaların geçen her saatte mortalite oranının %7,6 arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca mortalite artışıyla beraber morbidite oranlarının da artması sağlık bakım maliyetlerini yükseltmektedir [3]. Bu nedenlerden dolayı sepsisin klinik tanısı konulduğunda hemen ampirik tedaviye başlaması gerekir. Ampirik tedaviye, etken olabilecek tüm mikroorganizmaları kapsamak için genellikle geniş spektrumlu bir antibiyotikle başlanır. Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, antibiyotiklere direnç gelişmesine ve durum sonucunda yeni gelişecek enfeksiyonların dirençli patojenlerle ortaya çıkmasına yol açabilmektedir. Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda antibiyotik duyarlılık sonuçlarının hızlı bir şekilde klinisyene raporlanması büyük önem taşımaktadır [4].

Rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kan ve steril sıvı kültürleri için otomatize sistemler sıklıkla tercih edilmekte ve bu sistemlerle kültürdeki üremelerin tespiti hızlanmaktadır. Pozitif üremeler tespit edildikten sonra etkenin tanımlanması için, katı besiyerinde üreyen kolonilerden Matriks destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) ile bakteri tanımlaması da kısa sürede gerçekleştirilmektedir [5]. Ancak kültür şişesi

pozitif sinyal verdikten sonra etkenin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin sonuçlanması için 36-48 saate ihtiyaç vardır. Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing /EUCAST), kan kültür şişesinden doğrudan hızlı antibiyotik duyarlılık testi (HADT) yöntemi geliştirmiştir. Bu yöntem bazı bakterilerin bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıkları test edilebilmekte ve kültür şişelerinde üreme sinyali alındıktan sonra 4-8 saat içinde antibiyotik duyarlılık testleri sonuçlanabilmektedir. Yapılan çalışmalarda HADT sonuçlarının yüksek kategorik uyum göstererek kısa sürede antibiyotik duyarlılık sonuçlarının belirlenebildiği ve bu yöntemin laboratuvarlarda uygulanabilirliği gösterilmiştir [6-9]. Ancak HADT yönteminde çok büyük hata ve büyük hataların tespiti ve rutin laboratuvar uygulamaları sırasında iş takibinin yapılabilmesi için özel eğitilmiş personele ihtiyaç duyulması bu yöntemin dezavantajları arasındadır.

Bu çalışmada, BACTEC kültür şişelerine ekilen ve BACTEC cihazında pozitif sinyal veren kültür şişelerinde üreyen etkenlere MALDİ-TOF MS ile hızlı tanımlama yapılması, EUCAST HADT yöntemiyle hızlı antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi, sonuçların rutin tanımlama sonuçlarıyla ve standart disk difüzyon antibiyotik duyarlılık yöntemi sonuçlarıyla karşılaştırılması, HADT yönteminde bulunmayan bazı antibiyotiklere de hızlı antibiyotik duyarlılık testleri uygulanarak literatüre katkı sağlamak amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

Steril vücut bölgelerinden kaynaklanan enfeksiyonlar ciddi mortalite ve morbidite ile ilişkilidir. Bu enfeksiyonların hızlı bir şekilde uygun antimikrobiyal ilaçlarla tedavi edilmesi gerekir. Uygun tedavinin gerçekleştirilebilmesi de doğru ve hızlı mikrobiyolojik tanı yaklaşımı ile mümkündür.

2.1. Steril Vücut Sıvıları

Kan, beyin omurilik sıvısı (BOS), plevra sıvısı, perikard sıvısı, eklem sıvısı, periton sıvısı örnekleri steril vücut bölgelerinde bulunur. Bu bölgelerde normal şartlarda herhangi bir mikroorganizma bulunmadığı için bu bölgelerden alınan örneklerle steril vücut sıvıları denir. Bakteriler, virüsler, mantarlar ve çeşitli parazitler steril vücut sıvılarına bulaşarak enfeksiyona neden olabilirler [10].

2.1.1. Kan Dolaşımı Enfeksiyonu

Kan; hücrelere besin ve oksijen taşıyan, metabolizma sonucu ortaya çıkan zararlı atıkları vücuttan atabilecek organlara götüren, ekstraselüler bir sıvı ortamdır [11].

Kan dolaşımı enfeksiyonları, genellikle bakteri veya virüslerin kan dolaşım sistemine girmesi ve vücudun farklı bölgelerine yayılmasıyla ortaya çıkan enfeksiyonlardır. Bu enfeksiyonlar, genellikle birincil enfeksiyonun bulunduğu yerden başlayarak, kan yoluyla vücudun diğer bölgelerine yayılarak sistemik bir etki gösterir [12].

Bakteriyemi; kanda canlı bakterilerin bulunması durumudur ve tanısı kan kültürü pozitifliği ile konulur. Ancak kan kültürü pozitifliği her zaman bir enfeksiyon varlığını göstermez. Bakteriyemiler, geçici, aralıklı ve sürekli bakteriyemi olarak sınıflandırılırlar. Geçici bakteriyemi; genellikle diş çekimi gibi dental işlemlerden veya gastrointestinal ve genito üriner sistem cerrahilerinden sonra gelişebilir. Sağlıklı insanlarda belirti vermeden kendiliğinden iyileşir. Aralıklı bakteriyemi; abse varlığında veya meningokoksemi, gonokoksemi gibi klinik tabloların varlığında gelişebilir. Etken mikroorganizmalar, enfeksiyon odağından aralıklı olarak kan dolaşımına geçerler. Sürekli bakteriyemi; genellikle infektif endokarditte görülür ve

kan dolaşımına intravasküler bir kaynaktan sürekli mikroorganizma geçişi vardır [13]. Vücudun bağışıklık sistemi, bu mikroorganizmalarla savaşmak için aktive olur, ancak bazen bu tepki aşırı olabilir ve vücutta yaygın iltihaplanmaya ve sepsise neden olabilir.

Kan dolaşımı enfeksiyonlarının yaygın semptomları arasında ateş, titreme, halsizlik, baş ağrısı, bulantı ve kusma bulunur. Bazı sepsis vakalarında organ yetmezliği, şok ve ölüm gibi sonuçlar ortaya çıkabilir [14].

Kan dolaşımı enfeksiyonları (KDE), yüksek mortalite ile seyreden ciddi bir enfeksiyondur. Tanıda altın standart test kan kültürü pozitifliği'dir. Hızlı ve hedefe yönelik tedavi mortalite oranlarını azaltabileceği için enfeksiyona sebep olan etkeni tespit edip, antibiyotik duyarlılık testlerini hızlı bir şekilde sonuçlandırmak büyük önem taşımaktadır [15].

2.1.2 Kan kültürü

Kan kültürleri, kan dolaşımı enfeksiyonlarının teşhisini, tedavisini ve prognozunu en etkili şekilde belirlemek için kullanılan bir yöntemdir [16]. Kan kültürleri, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen en değerli örneklerdendir. Kan dolaşımı enfeksiyonlarının teşhisi, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının en kritik ve acil görevlerinden biridir. Kan kültürleri, kan dolaşım enfeksiyonlarının yaklaşık %35'inde pozitif sonuçlanmasına rağmen; bu yöntem enfeksiyon etkenini tespit etmenin yanında antibiyogram testlerinin yapılmasına imkân sağladığı için hala çok kıymetli bir yöntemdir [17].

Mikrobiyoloji laboratuvarında kan kültürü için en çok tercih edilen yöntem tam otomatize sistemlerdir. VersaTREK (Trek Diagnostic Systems, Cleveland, OH), BacT/Alert (bioMérieux, Durham, NC) ve BACTEC (BD Diagnostics, Sparks, MD) sistemleri laboratuvarlarda sık kullanılan otomatize cihazlardandır. Bu sistemler, kan kültürü şişelerinin zengin besiyeri içeriği nedeniyle olası patojenleri büyük ölçüde üretme özelliğinin yanı sıra üremenin saptanmasına kadar geçen sürenin kısalmasında da etkilidir [18].

Kan kültürlerinin hatalı sonuçlarını en aza indirmek için dikkat edilmesi gereken konular arasında örnek alma zamanı, alınacak örnek miktarı, set sayısı ve kontaminasyon önlenmesi sayılabilir [19]. Kan kültürü set (tek bir damar girişiyle

alınan kan örneğinin dağıtıldığı kültür şişelerinin tümü) sayısı, hastanın klinik durumuna, şüphelenilen enfeksiyona ve tedavinin aciliyetine göre değişebilir. Ancak tek kan kültürü seti yenidoğan dönemi haricinde yeterli görülmemektedir [20].

Hem yetişkin hastalarda hem de pediatrik hastalarda alınan kanın miktarı etken mikroorganizmanın tespitinde önemlidir. Yetişkin hastalarda maksimum sonuç alabilmek için her bir set başına 20-30 ml kan alınmalıdır. Çocuk hastalarda 2-3 ml kan yeterlidir [19].

Kan kültürleri, uygun endikasyonlar doğrultusunda, uygun sterilizasyon ve antisepsi önlemleri alınarak ve uygun miktarda örnek alınarak gerçekleştirilmelidir. Kan dolaşımında mikroorganizma konsantrasyonunun en yüksek olduğu dönem, genellikle ateşin başlamasından önceki 30-60 dakikalık süreçtir. Ancak, birçok hastada bu dönemi önceden tahmin etmek mümkün olmayabilir, bu nedenle ateş başladıktan sonra mümkün olan en kısa sürede kan kültürü alınmalıdır. Kan kültürleri, antibiyotik tedavisi başlamadan önce alınmalıdır [18].

Kontaminasyon, kanda mikroorganizma olmadığı halde kültürde üreme olması durumudur. Kan kültürü alımında cilt antisepsisinin yetersiz yapılması kontaminasyonun en sık sebebidir. Kan kültüründe en sık üreyen kontaminantlar insan deri florasında bulunan mikroorganizmalardır. Bunlardan bazıları, koagülaz negatif stafilokoklar, *Corynebacterium spp*, *Propionibacterium spp*, *Micrococcus spp*, ve viridans streptokoklardır [19]. Kan dolaşım enfeksiyonlarında gram pozitif bakteriyemiye neden olan en sık etkenler *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus spp*. iken gram negatif bakteriyemiye neden olan en sık etkenler *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* 'dır [18]. Kan kültürü alırken en sık tercih edilen antiseptikler alkol, klorheksidin ve iyotlu bileşiklerdir. Kontaminasyon riskini azaltmak için kan örneği alınırken önerilen pratik, örnek alınacak bölgenin önce %70'lik izopropil alkol ile temizlenmesi ve ardından %2 klorheksidin glukonat, %1-2 oranında iyot tentürü veya %10 povidon iyodinden biri ile silinmesidir [21].

Kan kültürü alındıktan sonra kültür şişeleri en geç iki saat içinde mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmalıdır. Şişelerin laboratuvara ulaşma süresi boyunca oda

sıcaklığında bulunması gerekir, buzdolabına konulması veya dondurulması etken mikroorganizmanın ölmesine neden olabilir [17].

2.1.3 Mikrobiyoloji Laboratuvarında Otomatize Sistemle Üreme Sinyali Veren Kan Kültürü Şişelerinin Değerlendirilmesi

Otomatize sistemde inkübasyon esnasında pozitif üreme sinyali veren kan kültür şişesi cihazdan çıkarılır. Kültür şişesinin üzerindeki lastik tıpa bir dezenfektan ile silinir ve kurumaya bırakılır. Gram boyama için 1-2 damla kan alkolle temizlenmiş lama damlatılır [18]. Gram boyama sonucu mikroskopla değerlendirilen preparatta enfeksiyöz etkene yönelik temel morfolojik özellikler değerlendirilir. Bakteriler hücre duvar yapılarına göre gram pozitif veya gram negatif olarak boyanırlar. Mikroskopik olarak bakterilerin şekil özellikleri (kok, basil, kokobasil) de değerlendirilir. Gram boyama ile elde edilen sonuç enfeksiyöz etkene yönelik ön tanı koymaya yardımcı olacağından hızlıca klinisyene bildirilir [22].

Kültür şişesinden alınan kan, koyun kanlı agar (KKA), çikolata agar (ÇA) ve en az bir gram negatif seçici basiyerine (eosin metilen blue agar (EMB), MacConkey agar (MAC), kromojenik agar vb.) 1-2 damla damlatılarak tek koloni düşürme yöntemiyle ekim yapılır. KKA ve ÇA %5 CO₂ 'li ortamda, EMB/MAC plakları normal atmosfer şartlarında 35-37 °C'de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda değerlendirilen plaklar etken olduğu düşünülen mikroorganizmaların tümü için tür tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testleri yapılır [18].

2.2. Beyin Omurilik Sıvısı

Beyin omurilik sıvısı (BOS), beyin ventriküllerinde bulunan koroid pleksuslarından sentezlenen santral sinir sistemi için yaşamsal fonksiyonlara sahip steril bir vücut sıvısıdır [23]. Santral sinir sistemi enfeksiyonları, menenjit, meningoensefalit, beyin abseleri veya subdural ampiyemler olarak sınıflandırılabilir. Bakteriyel mikroorganizmaların santral sinir sisteminde en sık sebep olduğu klinik durum menenjitlerdir. Menenjit çeşitli mikroorganizmaların sebep olduğu beyin zarlarının inflamasyonudur ve ilk olarak “serebrospinal ateş” olarak tanımlanmıştır. Menenjit olgularının yaklaşık %70’inden bakteriler sorumludur. Menenjite en sık sebep olan bakteriler, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* tip b ve

Haemophilus influenzae'dir [24]. Menenjitte erken ve etkili tedavi klinik sonuçları iyileştirir ve mortalite oranlarını azaltır. Tedavi görmeyen hastalarda, kafa içi basıncın artması sonucu ortaya çıkan komplikasyonlar, sepsis ve çoklu organ yetmezlikleri gibi faktörler nedeniyle ölüm riski yüksektir veya kalıcı nörolojik fonksiyon kayıpları yaşanabilir [25]. Türkiye'deki istatistiksel verilere göre menenjitler, tanımlanmış enfeksiyon kaynaklı ölümlerin 2. en sık sebebidir [26]. BOS'un incelenmesi santral sinir sistemi enfeksiyonlarının tanısında ve tedavi izlemlerinde önemlidir [23].

BOS numunesi, lomber ponksiyon adı verilen invaziv bir işlem ile elde edilir. Lomber ponksiyon işlemi sırasında hasta yan yatar pozisyonundadır. Bu işlem hastaya lokal anestezi yapıldıktan sonra 3. ile 4. veya 4. ile 5. lomber vertebralar arasındaki intervertebral disk aralığından bir iğne yerleştirilmesiyle uygulanır ve BOS numunesi alınır. Bu intervertebral disk seviyesinin tercih edilmesinin nedeni omurilik parankiminin 12. torakal vertebra ile 1. lomber vertebra seviyelerinde bitmesinden kaynaklanmaktadır [1].

BOS örneğinin değerlendirilmesi ilk olarak makroskopik inceleme ile başlar. BOS normalde renksiz ve berrak bir sıvıdır. BOS örneğinde bulanıklık gözlemlenmesi, BOS'ta lökosit konsantrasyonunun arttığını veya herhangi bir mikroorganizmanın varlığını düşündürür. Mikroskopik incelemede ise lökosit sayısı, baskın hücre hakimiyeti, gram boyama sonucu değerlendirilir. Sağlıklı insandan alınan BOS örneğinde lökosit sayısı 0-5 μ l (mikrolitre) kadardır ve lenfosit hakimiyeti vardır. Ayrıca BOS'un biyokimyasal analizi de menenjit ayırıcı tanısında kullanılır. Artmış protein miktarı ve azalmış glukoz miktarı bakteriyel menenjit ile uyumludur [27]. BOS normal değerleri ve çeşitli menenjit tiplerinde izlenen değişimler Tablo 2.1'de sunulmuştur.

BOS kültürü için otomatize sistemler ve konvansiyonel kültür yöntemleri kullanılabilir. Otomatize sistem ile kültür işleminde, BOS örneği otomatize sistem kültür şişesine ekilir ve cihazda inkübasyona bırakılır. Pozitif sinyal verdikten sonra cihazdan çıkarılarak gram boyama işlemi ve kanlı besiyerine ekimi yapılır. Kanlı besiyeri inkübasyon sonunda değerlendirilir. Üreyen bakteri kolonilerinden tanımlama ve antibiyotik duyarlılık işlemleri yapılır. Konvansiyonel kültür yönteminde ise BOS örneği direkt kanlı besiyerine azaltma ekim tekniğiyle ekilir ve inkübasyon sonrası

değerlendirilerek üreyen bakteri kolonilerinden antibiyotik duyarlılık test işlemleri gerçekleştirilir [17].

Tablo 2.1. BOS normal değerleri ve menenjit tiplerindeki değişiklikler [28]

	Görünüm	Lökosit (mm ³)	Baskın hücre tipi	Protein (mg/dl)	Glukoz (mg/dl)
Normal	Berrak	<5	Lenfosit	20-45	>50 veya Kan şekerinin >%75
Bakteriyel menenjit	Bulanık, pürülan	100-10000	Nötrofil	100-500	Azalmış
Viral menenjit	Berrak	<1000	Lenfosit	50-200	Genellikle normal
Tüberküloz menenjiti	Berrak, ksantokromik	10-500	Lenfosit	25-500	<50

mm³: milimetreküp mg/dl: miligram/desilitre

BOS örneklerinde özellikle viral menenjit tanısında moleküler yöntemler de kullanılabilir. Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) bakteriyel, viral ve mantar enfeksiyonlarının tanısında kullanılabilir. Ancak menenjit tanısı için kültür hala altın standart yöntemdir [17].

2.3. Plevral Sıvı

Plevral sıvı, visseral ve pariyetal plevra yapraklarının birbiri üzerinde hareketini kolaylaştıran bir steril sıvıdır. Sağlıklı insanlarda miktarı 01-0,2 mL/kg kadar olup devamlı yenilenmektedir. Sıvı oluşumunda artma veya sıvı emiliminde azalma olması plevral aralıkta sıvı birikmesine neden olur bu da plevral efüzyon olarak adlandırılır [29]. Plevrada fazla miktarda sıvı oluşumunun sebepleri; hidrostatik basınç artışı, plevral basınç azalması, plevral onkotik basıncın azalması, geçirgenlik artışı ve lenfatik drenajın bozulmasıdır.

Plevral efüzyonlar birçok nedene bağlı oluşabilir, tanı için öncelikle transuda-eksuda ayrımı yapılması gerekir. Transuda-eksuda ayrımında kullanılan kriterler Tablo 2.2’de verilmiştir. Transuda ve eksudaya sebep olan klinik durumlar Tablo 2.3’te verilmiştir. Plevral efüzyon tespit edildiğinde ilk olarak torasentez işlemi yapılmalı ve işlem sonrası alınan sıvı mikrobiyolojik, biyokimyasal ve sitolojik yönlerden incelenmelidir [30].

Tablo 2.2. Plevral efüzyon için transuda eksuda ayrımı

Kriterler	Transuda	Eksuda
Görünüm	Berrak	Bulanık
Lökosit sayısı	<10.000 mm ³	>50.000 mm ³
pH	>7.2	<7.2
Protein	3.0 g/dL	>3.0 g/dL
Plevral sıvı/serum protein	<0.5	>0.5
Plevral sıvı/serum LDH	<0.6	>0.6
Glukoz	≥60 mg/dL	<60 mg/dL

Eksüdatif plevral efüzyon, bakteriyel pnömoni, bronşektazi veya akciğer absesi varlığında gelişebilir. Pnömoni tanısı olan hastalarda plevral efüzyon gelişmesi mortalite ve morbiditeyi artırabilmektedir. Bunlar göz önünde bulundurulduğunda eksüda özelliğindeki plevral efüzyonlarda hızlı ve doğru mikrobiyolojik tanı yaklaşımı önemli hale gelmektedir [31].

Mikrobiyoloji laboratuvarına ulaşan plevral sıvı örneği makroskobik olarak değerlendirilir. Sıvıda bulanıklık kan veya pıhtı içerip içermediği kaydedilir. Mikroskobik incelemede ilk olarak hücre sayımı yapılır, plevral enfeksiyonlarda nötrofiller baskın durumdadır. Daha sonra gram boyama ve aside dirençli boyama işlemleri gerçekleştirilir. Kültür için plevral sıvı örneği kan kültürü şişelerine ekim yapılarak inkübasyona bırakılır. Eğer kan kültürü şişeleri kullanılmayacaksa örnek santrifüj edilip çökeltiden, kanlı ve çikolata besiyerine ekim yapılır. Otomatize sistem için kültür şişeleri 5-7 gün boyunca inkübe edilir. Örnekler kanlı ve çikolata besiyerlerine ekim yapılmışsa %5-10 CO₂’li ortamda 4 gün inkübe edilir. İnkübasyon

sonrası üremeler kontrol edilip değerlendirilir ve üreyen kolonilerden tanımlama sonrası antibiyotik duyarlılık işlemleri gerçekleştirilir [17].

Tablo 2.3. Transuda ve eksuda nedenleri [32]

Transuda nedenleri	Eksuda nedenleri
Konjestif kalp yetmezliği	Maligniteler
Karaciğer sirozu	Enfeksiyonlar
Nefrotik sendrom	Pulmoner emboli
Miksödem	Gastrointestinal hastalıklar
	Otoimmün inflamatuvar hastalıklar
	Meigs sendromu
	İlaçlar
	Radyasyon

2.4. Eklem Sıvısı

Eklem sıvısı; eklem kapsülünü dolduran, sinoviyal membranda bulunan sinoviosit hücrelerinden salgılanan yüksek molekül ağırlıklı, berrak sarımsı renkli bir sıvıdır. Eklem sıvısı, sağlıklı insanlarda eklem yüzeylerinde 0.1-3.5 mL kadar bulunur. Eklem kıkırdaklarının beslenmesini sağlar ve kıkırdaklarının hareketini kolaylaştırır. Eklemi etkileyen inflamatuvar, noninflamatuvar veya septik nedenlere bağlı olarak eklem sıvısının miktarı artabilir. Eklem sıvısının incelenmesi özellikle septik artritis tanısında önemlidir. Septik artritis, eklem zarları ve eklem sıvısında çeşitli mikroorganizmaların bulunduğu bir enfeksiyon tablosudur. Eklemde bulunduğu bölgede ağrı, kızarıklık, ısı artışı, şişlik veya eklem hareketlerinde kısıtlılık gibi belirtiler ile ortaya çıkabilir. Akut başlangıçlı ve ciddi seyir gösteren septik artritis, mortalite ve morbidite riskinin artıran ortopedik acil bir durumdur. Bu nedenle hızlı tanı ve etkili tedavinin önemi artmaktadır [33].

Eklem sıvısı normalde steril bir sıvı olduğundan, sıvıda tespit edilen tüm mikroorganizmalar etken olarak düşünülür. Septik artritlerde en sık etyolojik ajan *S.aureus*'tur. Yetişkinlerde septik artrit'in ikinci en sık sebebi streptokoklardır. *Streptococcus pyogenes* genellikle en sık tespit edilen streptokok türüdür. Cinsel aktif

dönemdeki bireylerde gram negatif koklardan *Neisseria gonorrhoeae* ve *Neisseria meningitidis* de septik artiritin nedenleri arasındadır [2].

Septik artritte mikrobiyolojik tanı için laboratuvara gönderilen eklem sıvısı ilk olarak makroskopik yönden incelenir. Rengi, saydamlığı, miktarı, pıhtı içerip içermediği değerlendirilir. Eklem sıvısında lökosit arttıkça şeffaflık azalır, rengi bulanıklaşır ve vizkozitesi azalır. Makroskopik incelemeden sonra, santrifüj edilmemiş örnekten sayma kamarasıyla lökositler sayılır. Gram boyama yapılarak preparat değerlendirilir. Kültür için birkaç damla örnek kanlı ve çikolata besiyerlerine ekilir. %5-10 CO₂'li ortamda 4 gün inkübe edilir. Alternatif olarak örnek kan kültürü şişelerine ekilerek normal atmosfer koşullarında 5-7 gün inkübe edilir. İnkübasyon sonrası bakteri üremeleri değerlendirilir, tanımlama ve antibiyotik duyarlılık test işlemleri yapılır [17].

2.5. Periton Sıvısı

Periton, karın iç yüzü ve organları örten, tek katlı mezotelyal hücrelerden oluşan seröz özellikte bir zardır. Periton boşluğu, yüzeyleri nemli tutmak için yaklaşık 100 mL sıvı içerir ve bu da iç organların hareketini kolaylaştırır. Normal periton sıvısının özgül ağırlığı (<1016) ve protein içeriği (3 g/dL) düşük, <250 mm³ lökosit içeren berrak bir sıvıdır [34]. Enfeksiyöz veya inflamatuvar durumlar periton sıvısını arttırır ve periton boşluğunda birikmesine neden olur. Periton boşluğunda biriken bu sıvı asit olarak adlandırılır ve genellikle karaciğer enfeksiyonlarından kaynaklanır. Periton sıvısı parasentez yoluyla alınır, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve sitolojik yönlerden incelenebilir [35].

Periton boşluğunun enfeksiyonu peritonit olarak adlandırılır ve peritonitler; spontan bakteriyel peritonit, sekonder peritonit, tersiyer peritonit ve periton diyalizine bağlı peritonit olmak üzere dörde ayrılır.

1. **Spontan Bakteriyel (Primer) Peritonit:** Sirozlu hastalarda sık görülür ve genelde monomikrobiyal bir enfeksiyondur. En sık etken *E.coli*'dir. Bunu *K.pneumoniae*, *S.pneumoniae* ve diğer *Enterobacterales* üyeleri takip eder. Tanısı etken olan mikroorganizmanın kültürde üretilmesiyle ve periton sıvısında lökosit sayısının ≥ 250 mm³ olmasıyla konulur [34].

2. **Sekonder Peritonit:** Batın içi organların perforasyonu, travmatik yaralanmalar, cerrahi operasyonlar, obstrüksiyon veya geçirilmiş bir enfeksiyon sonrasında bağırsak duvarı bütünlüğünün bozulması sonucu meydana gelebilir. Genellikle polimikrobiyaldir, aerop ve anaerop bakterilerin birlikte olduğu enfeksiyonlardır [36].
3. **Tersiyer Peritonit:** En az 48 saat süre tedaviye rağmen klinik olarak bir iyileşme olmaması veya tedaviden sonra yeniden peritonit gelişmesi durumudur. Kronik hastalığı olanlarda ve bağışıklık sistemi baskılanmış olanlarda daha sık görülür. *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas spp*, *E.coli*, *Candida spp.* ve *Bacteroides fragilis* en sık saptanan etkenlerdendir [37].
4. **Periton Diyalizine Bağlı Peritonit:** Periton diyalizine giren hastalarda görülen bir komplikasyondur. Diyaliz sıvısında bulanıklık görülürse ve hastada karın ağrısı şikâyeti varsa peritonitten şüphelenilir. Etkenler genellikle hastanın kendi cilt florasından kaynaklanır [38].

Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen periton sıvısı örneği ilk olarak makroskobik yönden değerlendirilir ve rengi, bulanıklığı, viskozitesi ve pıhtı varlığı kaydedilir. Mikroskobik incelemede önce sayma kamerasıyla hücre sayımı yapılır ve gram boyama veya düşünülen etkene yönelik boyama yöntemleriyle boyanıp değerlendirilir. Kültür işlemleri için bir iki damla periton sıvısı kanlı veya çikolata besiyerine ekim yapılır. Ekim yapılan besiyerleri %5-10 CO₂'li ortamda 4 gün inkübe edilir. Kültür için otomatize sistem kullanılacaksa, periton sıvısı örneği hem aerop hem de anaerop kültür şişesine ekilir. Üretici firma önerilerine göre 5-7 gün cihazda inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonucu kültür plakları değerlendirilir ve üreyen kolonilerden tanımlama, antibiyotik duyarlılık test işlemleri yapılır.

2.6. Steril Vücut Sıvılarında Üreyen Etkenlerin Tanımlanması

Steril vücut sıvılarında üreyen etkenlerin doğru bir şekilde tanımlanması, hastanın tanısı ve tedavisi için büyük önem taşımaktadır. Üreyen kolonilerden konvansiyonel yöntemler kullanılarak, otomatize sistemlerle veya Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrofotometresi (MALDİ-TOF MS) ile bakteri tanımlaması yapılabilir. Bu yöntemlerle bakteri tanımlaması yapabilmek için,

bakterilerin katı besiyerinde üremesi gerekmektedir ve bu da steril sıvıların pozitif sinyal vermesinden sonra en erken 10-12 saat sonra gerçekleşebilmektedir. Son yıllarda, steril vücut sıvılarında üreyen mikroorganizmaların, pozitif sinyal veren kültür şişelerinden direkt olarak MALDİ-TOF MS ile tanımlamanın mümkün olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır [39-42].

2.6.1. Konvansiyonel Yöntemlerle Bakteri Tanımlanması

Gram pozitif bakterilerin tanımlanmasında, katalaz testi, koagülaz testi, eskülin hidroliz testi, safrada erime testi, PYR (pirolidil- β -naftilamid) testi; gram negatif bakterilerin tanımlanmasında ise oksidaz testi, indol testi, üreaz testi, oksidasyon fermentasyon testleri ve aminoasit dekarboksilasyon testleri sıklıkla kullanılan biyokimyasal testlerdir. Bunun yanında, hareket testi, hippurat hidrolizi, KIA/TSI (Kligler iron agar / Triple sugar iron agar) testleri, Lizin - Ornitin - Arjinin dekarboksilaz/ dihidrolaz testleri, Nitrat / Nitrit redüksiyonu testleri, tuz tolerans testi (%6.5 NaCl'de üreme) de konvansiyonel tanımlama yöntemlerinde kullanılan testlerdir.

Katalaz Testi

Katalaz enzimi hidrojen peroksiti (H_2O_2), su (H_2O) ve oksijene (O_2) indirgeyen bir enzimdir. Katalaz testi, bir mikroorganizmanın katalaz enzimini taşıyıp taşımadığını belirlemek için kullanılır. Bu test en sık streptokok (katalaz negatif) ve stafilokokları (katalaz pozitif) ayırt etmekte kullanılır [22].

Koagülaz Testi

Koagülaz, fibrinojeni aktive edip fibrin oluşturarak pıhtı oluşumuna sebep olan trombin benzeri bir maddedir. Koagülaz testi *Staphylococcus aureus* 'u diğer stafilokok türlerinden ayırt etmek için kullanılır. Lamda koagülaz ve tüpte koagülaz testi olmak üzere iki farklı şekilde yapılabilir [22].

Eskülin Hidroliz Testi

Eskülin, bir glikoziddir ve bazı bakteriler tarafından üretilen eskülinaz enzimi ile glikoz ve eskületine yıkılır. Eskülin hidroliz testi, eskülinaz enzim aktivitesinin gösterilerek, enterokokların ve *Streptococcus bovis* grubu bakterilerin (*S. equinus*, *S.*

gallolyticus, *S. infantarius* ve *S. alactolyticus*) diğer streptokoklardan ayırt edilmesinde kullanılır [22].

Safrada Erime Testi

Streptococcus pneumoniae, tanısında kullanılan bir testtir. Test belirli bir süre, uygun sıcaklıkta safra tuzlarına (sodyum deoksikolat) maruz bırakılan kolonilerde erime görülmesi esasına dayanır. Bu testten diğer streptokoklar etkilenmezken, pnömokokların eridiği gözlenir [22].

PYR (pirolidil- β -naftilamid) Testi

PYR testi başta bazı gram pozitif koklar olmak üzere pek çok bakterinin ayırıcı tanısı için yaygın kullanılan bir testtir. PYR testinde, bazı bakterilerde bulunan pirolidonil peptidaz enzimini üreten bakteriler saptanır. Bu test, *S.pyogenes*'te ve enterokokların %99'unda pozitifdir [22].

Oksidaz Testi

Oksidaz testi sitokrom oksidaz enziminin gösterilmesi amacıyla kullanılır. Bu test özellikle gram negatif bakterilerin tanımlanmasında ilk yapılacak testtir. Bütün *Enterobacteriaceae* üyeleri oksidaz negatiftir. *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella*, *Campylobacter*, *Pasteurella* ve *Vibrio* kökenleri ise oksidaz pozitifdir [22].

İndol Testi

İndol testi, tritofanaz enziminin gösterilmesi amacıyla kullanılır. Bu enzimi bulunduran bakteriler, triptofandan zengin besiyerinde ürerken triptofanı yıkarak indolün açığa çıkmasına sebep olurlar. İndol testinde, açığa çıkan indolün bazı aldehitlerle renkli bileşik oluşturması prensibine dayanır [22].

Üreaz Testi

Üreaz enzimi, üreyi amonyak ve karbondioksite parçalar ve ortamı alkali yapar. Alkali ürünler, pH indikatörü fenol kırmızısının varlığında ortam renginin sarıdan pembe-kırmızıya dönüşmesi ile saptanır. Üreaz testi, mikroorganizmaların üreaz aktivitesini göstermek amacıyla yapılır. *Proteus*'lar ve bazı *Enterobacter*, *Citrobacter* ve

Klebsiella türleri üreaz pozitiflerdir. Üreaz negatif olan *Salmonella* ve *Shigella* türleri de çoğu üreaz pozitif olan *Yersinia* türlerinden üreaz testi ile ayırt edilirler [22].

Oksidasyon-Fermentasyon Testleri

Oksidasyon-fermentasyon testleri, özellikle gram negatif bakterilerin, karbonhidratları oksidatif (aerob) veya fermentatif (anaerob) yoldan hangisinin kullanıldığını saptayarak bakterileri tanımlar. Bakteriler karbonhidratları, oksidatif veya fermentatif yoldan metabolize ederek bazı ürünler ortaya çıkarırlar. Metabolizma sonucu oluşan bu ürünler ortam pH'ını düşürerek ortamdaki pH indikatörünün rengini değiştirir. Böylece bakterilerin hangi yolu kullandığı tespit edilir ve fermentatif veya nonfermentatif olarak tanımlanabilir [22].

Aminoasit Dekarboksilasyon Testleri

Dekarboksilasyon, dekarboksilaz enzimlerinin aminoasitlerin karboksil uçlarını ayırarak amin ortaya çıkarması durumudur. Aminoasit dekarboksilasyon testleri *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri ile *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Vibrio spp* ve nonfermentatif gram negatif bakterilerin tanımlanmasında tercih edilir [22].

2.6.2. Otomatize Sistemlerle Bakteri Tanımlanması

Otomatize sistemler; substratın kullanımından oluşan pH değişikliklerini, kromojenik veya florojenik bileşiklerin salınımına bağlı enzimatik reaksiyonları, uçucu ve uçucu olmayan asitlerin saptanmasını çeşitli indikatörler yardımıyla tespit eder ve bakteri identifikasyonunu sağlar. Günümüzde bakteri tanımlanması için sık kullanılan otomatize sistemler, Vitek 2 (BioMérieux), Phoenix (Becton-Dickinson), Microscan (Siemens Healthcare Diagnostics) dir. Bu sistemlerin, uygulama kolaylığı, zaman tasarrufu, erken sonuç alabilme, birlikte antibiyotik duyarlılık testlerini gerçekleştirebilme gibi avantajlarının yanında, pahalı olmaları, kalibrasyon ve kontrol gerekliliği, kontroller ihmal edildiğinde hatalı sonuç verebilme gibi dezavantajları da bulunur [43, 44].

2.6.3. MALDİ-TOF MS ile Bakteri Tanımlanması

MALDİ-TOF MS teknolojisi ile bakteri veya mantar türlerini birkaç dakika gibi kısa süreler içerisinde doğru bir şekilde tanımlayabilmektedir. MALDİ-TOF MS ile tanımlanmak istenen bakteri kolonisi, “target” olarak adlandırılan metal plakadaki kuyucuklara sürülerek üzerine matriks solüsyonu eklenir ve kurumaya bırakılır. Kuruyan matriks kristalleşir. Kuruduktan sonra metal plaka cihaza yerleştirilir ve lazer atışları yapılır. Matriks solüsyonu, lazer atışlarından gelen enerjiyi emer ve ısıya dönüştürür. Ortaya çıkan ısı, target üzerine eklenen bakteri-matriks bileşimini buharlaştırır. Lazer atışları ile bakteri-matriks bileşiminde mikro patlamalar oluşur ve pozitif yüklü iyonlar meydana gelir. Ortaya çıkan iyonize moleküller, kütle/yük oranlarına göre farklı hızlarda hareket ederek cihaz içerisindeki dedektörlere ulaşırlar. Böylelikle iyonize moleküllerin dedektöre ulaşma süreleri (uçuş süreleri) de farklı olmaktadır. Lazer atışı sonunda tüm iyonize moleküller için toplam uçuş süreleri bir spektrum oluşturur. Bu spektrum cihaz içerisinde arşivlenmiş tüm spektrumlarla karşılaştırılarak en uygun bakteri eşleşmesi yapılır ve bakteri tanımlanmış olur [45].

2.7. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Enfeksiyonların uygun ve etkili bir antibiyotikle tedavi edilebilmesi ve antibiyotik direnç oranlarının belirlenebilmesi için antibiyotik duyarlılık testleri yapılmalıdır. Rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında antibiyotik duyarlılık testleri, difüzyon yöntemleri, dilüsyon yöntemleri ve otomatize sistemler kullanılarak gerçekleştirilmektedir.

2.7.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi, antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde kullanılan en eski yöntemlerden biridir. Kolay uygulanabilmesi, özel ekipman gerektirmemesi ve ucuz olması nedeniyle rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında sık tercih edilen bir yöntemdir. 1966 yılında Alfred Bauer ve William Kirby tarafından standardize edilmiş ve Kirby-Bauer ismiyle de anılmaktadır. Günümüzde EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) ve CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) tarafından yayımlanan antibiyotik duyarlılık test standartları

kullanılmaktadır. Disk difüzyon yöntemiyle birçok enfeksiyon etkeni ajan ve tedavi için kullanılacak antibiyotik, test edilebilmektedir.

Disk difüzyon testinin temeli, kâğıt disklere belirli miktarda emdirilen antibiyotiğin, duyarlılığı araştırılacak bakterinin ekildiği besiyerine difüze olmasına dayanmaktadır. Bu amaçla, 0,5 McFarland bulanıklığındaki bakteri süspansiyonunun ekildiği Mueller Hinton besiyerine steril bir penset yardımıyla antibiyotik emdirilmiş kâğıt diskler yerleştirilir. Diskler yerleştirilirken oluşacak inhibisyon zonlarının birbirini üzerine geçmemesi için, diskler arasında 22 mm ve petri kenarlarından 14 mm uzaklıkta olmasına dikkat edilir. Diskler bir süre sonra çözünüp besiyerine difüze olurken, besiyerine ekilen bakteriler de çoğalmaya başlar. Belirli bir inkübasyon süresi geçtikten sonra, antibiyotiğin inhibitör konsantrasyonlarının sağlandığı diskin çevresinde bakteri üremesi görülmez ve inhibisyon zonu oluşur. Bakteri test edilen antibiyotiğe ne kadar duyarlıysa, bu inhibisyon zonu da o kadar geniş olur. İnhibisyon zon çapları, 35°C’de 16-20 saatlik inkübasyon sonunda bir cetvel yardımıyla ölçülür ve mm değeri olarak kaydedilir. Ölçümler disk difüzyon standart sınır değer tabloları kullanılarak değerlendirilir ve bakterinin test edilen antibiyotiğe karşı duyarlılığı belirlenmiş olur [46].

2.7.2. Gradient Şerit Yöntemi

Gradient şerit yöntemi, katı besiyerinde difüzyon yoluyla, MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerinin saptanması prensibine dayanır. E-test yöntemi olarak da bilinmektedir. MİK, bir mikroorganizmanın üremesini engelleyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. Bu yöntemde kullanılan şeritin her bir çizgisinde farklı bir antibiyotik konsantrasyonu bulunmaktadır. Gradient şerit yönteminde test edilecek bakteriden, 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyon hazırlanır ve steril bir eküvyon ile Mueller Hinton besiyeri yüzeyine yayılır. Bunu takiben belirli antibiyotik gradienti içeren şeritler besiyerine yerleştirilir. Besiyeri plakları 35°C’de 16-20 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda yerleştirilen şeritin etrafında oluşan elips şeklindeki inhibisyon zonu değerlendirilir. Test edilen bakteri için antibiyotiğin MİK değeri, inhibisyon zonunun şeriti kestiği noktadaki konsantrasyon değeridir. Belirlenen MİK değerleri, standart sınır değer tabloları yardımıyla duyarlı veya dirençli olarak yorumlanır [47].

2.7.3. Dilüsyon Yöntemleri

Dilüsyon yöntemi ile, test edilecek antibiyotiğin; bakteriyi öldürmek veya bakterinin üremesini engellemek için gereken minimum konsantrasyonu belirlemek için uygulanır. Tüp dilüsyon ve agar dilüsyon olmak üzere iki farklı şekilde uygulanabilir.

Tüp Dilüsyon Yöntemi

Tüp dilüsyon yöntemi, makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemi olarak iki şekilde uygulanabilir. Makrodilüsyon test tüpleri ile, mikrodilüsyon “U” veya “V” tabanlı “mikroplate”ler ile gerçekleştirilir. Tüp dilüsyon yönteminde besiyeri olarak katyon eklenmiş Mueller Hinton buyyon kullanılır. Test edilecek antibiyotikler stok solüsyonlar olarak hazırlanır ve özel çözücü içinde çözündürülürler. Hazırlanan antibiyotikler, sıvı besiyeri içeren tüplere veya mikroplate üzerindeki kuyucuklara iki kat seri dilüsyonlar yapılarak eklenir. Test edilecek bakteri kolonilerinden 1×10^6 cfu/ml hazırlanıp antibiyotik içeren her tüpe veya mikroplate üzerindeki her kuyucuğa dağıtılır. Ayrıca bakteri üremesini kontrol etmek için antibiyotik içermeyen bir tüpe daha eklenir. Bakteri eklenmemiş sadece besiyeri konulmuş bir tüp veya kuyucuk da besiyeri kontrolü için hazırlanır. Besiyerleri 35°C'de 16-20 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda test tüpleri veya mikroplate’ler bakteri üremesini gösteren bulanıklık açısından incelenir. Bulanıklığın olmadığı en düşük ilaç konsantrasyonu, minimum inhibitör konsantrasyon olarak belirlenir. Belirlenen MİK değerleri standart sınır değer tablolarından duyarlı veya dirençli olarak yorumlanır [47].

Agar Dilüsyon Yöntemi

Agar dilüsyon yöntemi, tüp dilüsyon yöntemiyle prensip olarak aynıdır. Bu yöntemdeki farklılık, test edilecek antibiyotiğin farklı konsantrasyonları agar içine konulur ve petri kaplarına dökülür. Bu yöntem için Mueller Hinton agar kullanılır. Test edilecek bakteri 0,5 McFarland bulanıklıkta hazırlanır ve 1/10 oranında sulandırılarak 10^7 cfu/ml konsantrasyon elde edilir. Hazırlanan bu bakteri süspansiyonundan antibiyotik eklenmiş agar yüzeylerine 1-2 ml inoküle edilir. Plaklar 35°C'de 16-20 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda plaklar değerlendirilir ve bakteri üremesinin engellendiği antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak belirlenir. Belirlenen MİK

değerleri standart sınır değer tablolarından duyarlı veya dirençli olarak yorumlanır [47].

2.7.4. Otomatize Sistemler

Otomatize sistemler ile antibiyotik duyarlılık testleri, diğer yöntemlere göre daha kolay uygulanabilir ve bu nedenle mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla tercih edilir. Bu sistemlerin prensibi, MİK değerini belirlemek için modifiye edilmiş bir mikrodilüsyon tekniğini kullanmaya dayanır. Test edilecek bakteriler, üretici firma tarafından hazırlanmış antibiyotik dilüsyonlu mikropklara inoküle edilir [48]. Bu sistemlerin avantajı, duyarlılık testlerinin kısa sürede uygulanabilmesidir. Dezavantajı ise, test edilecek antibiyotikler üretici firma tarafından belirlendiği için farklı bir antibiyotiği test etmek imkansızdır. Otomatize sistemler ile test edilen bakterilerin, antibiyotikli ve antibiyotiksiz ortamdaki büyümeleri spektrofotometrik olarak ölçülür. Bakterilerin büyüme hızına göre farklı spektrumlar farklı MİK değerlerine karşılık gelir. Elde edilen sonuçlar cihaz veri tabanında bulunan sonuçlar ile kıyaslanır ve duyarlılık sonucu belirlenir [8]. Piyasada bulunan ve mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık kullanılan otomatize sistemler; Vitek 2 (BioMérieux), Phoenix (Becton-Dickinson), Microscan (Siemens Healthcare Diagnostics) dir [49].

2.7.5. Hızlı Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Son yıllarda antibiyotiklere gelişen direnç oranlarının artması, tedavide başarısızlığa, tekrarlayan enfeksiyonlara, sağlık bakım maliyetlerinin artmasına, mortalite ve morbidite artışına neden olmaktadır [50]. Bu sorunların engellenebilmesi için, enfeksiyon hastalıklarında geniş spektrumlu antibiyotik tedavisinden kaçınılmalı ve etkili tedavi için en dar spektrumlu antibiyotik tercih edilmelidir. Konvansiyonel yöntemlerle, pozitif sinyal veren kan kültürü örneklerinin antibiyotik duyarlılık testlerinin sonuçlanması için 36-48 saate ihtiyaç vardır. Bu süreleri kısaltmak ve özellikle sepsis gibi hayatı tehdit eden hastalıklarda uygun antibiyotiği kısa sürede bulabilmek için hızlı antibiyotik test yöntemleri geliştirilmiştir. Günümüzde kan kültürleri için, Alfred 60AST (Alifax, İtalya), Fastinov (Portekiz), LifeScale (Affinity Biosensors, ABD), PhenoTest BC (Accelerate, ABD), dRAST (QuantaMatrix, Inc., Güney Kore) ve LifeScale (Affinity Biosensors, ABD) gibi otomatize sistemler ile

hızlı antibiyotik duyarlılık testleri çalışlabilmektedir. [51] Bu otomatize sistemlerin pahalı olması nedeniyle, mikrobiyoloji laboratuvarlarında kolay uygulanabilir ve ucuz olan başka bir yöntem ihtiyacı duyulmuştur. EUCAST Kasım 2019 tarihinde, pozitif kan kültürü şişelerinden doğrudan hızlı antibiyotik duyarlılık testi (HADT) yönergesini yayınlamıştır. Bu yöntem disk difüzyon temeline dayanır ve pozitif kan kültüründen doğrudan inokülasyon ile kısa inkübasyon saatleri sonrasında antibiyotik duyarlılık sonuçlarının alınmasına olanak verir [6].

EUCAST Hızlı Antibiyotik Duyarlılık Test (HADT) Yöntemi

EUCAST HADT, pozitif kan kültürü şişelerinden ek bir işleme ihtiyaç duyulmadan, antibiyotik duyarlılık testlerini 4, 6, 8 ve 16-20 saat gibi kısa inkübasyon süreleri kullanarak sonuçlandırmak için geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu yöntem bazı bakteriler ve bazı antibiyotikler için standartlaştırılmıştır. Yöntemde test edilecek bakteriler; *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dur. Yöntem ayrıca, BACTEC (Becton Dickinson, ABD), BacT/ALERT (bioMérieux, Fransa) ve VersaTREK (Thermo Fisher, ABD) kan kültürü şişeleri için valide edilmiştir. Bu yöntemle test edilecek bakterilerin her biri için farklı antibiyotikler test edilebilir. Antibiyotik sınır değerleri her bakteri için farklılık gösterdiğinden, sonuçların değerlendirilebilmesi için test edilen bakterinin tanımlanması gerekmektedir.

EUCAST HADT yönteminde kan kültür şişesinden alınan yaklaşık 100-150 µL besiyeri içeriği, Mueller Hinton agar yüzeyine yayılır ve ilgili antibiyotik diskleri agara yerleştirilir. 4. 6. ve 8. saatlerde veya bu saatlerde inhibisyon zonu oluşmayan antibiyotikler için 16-20. saatlerde değerlendirmek üzere plaklar 35°C'de inkübasyona bırakılır. Okuma zamanlarında ölçülen inhibisyon zon çapları ilgili bakteri ve antibiyotik için oluşturulmuş sınır değer tablolarına bakılarak yorumlanır. Ancak bu yöntemde bazı antibiyotikler için duyarlılık sonucu belirlenemez. Bunun sebebi, inhibisyon zonlarının değerlendirilememesi veya zon çapının duyarlılık sonucunun belirlenemediği teknik belirsizlik alanında (ATU) kalmasıdır. Bu gibi durumlarda sonuç rapor edilmez ve bu antibiyotikler için standart duyarlılık testleri çalışılır. Sonuçlar raporlanırken kısa inkübasyon saatlerinin kullanıldığı raporda bildirilmelidir.

2.8. Enterobacteriaceae Üyelerinde Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) Varlığının Saptanması

GSBL'ler penisilin ve sefalosporin grubu antibiyotiklerin çoğunu hidroliz eden ancak sefamisin ve karbapenemleri etkilemeyen enzimlerdir. GSBL içerisinde en önemli grubu, 2000'li yılların başında ortaya çıkan CTX-M enzimleri oluşturur. GSBL üretiminin en sık saptandığı türler *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'dir. Enfeksiyon kontrolü açısından GSBL enzimlerinin saptanması birçok ülkede önerilmektedir [52].

2.8.1. GSBL Tarama Testleri

GSBL taraması için disk difüzyon yöntemiyle, sefpodoksim, seftazidim, seftriakson, sefotaksim gibi sefalosporinler kullanılır. Kullanılan bu disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçülür ve EUCAST/CLSI önerilerince GSBL taraması yapılır. Tarama sonucu pozitif çıkan bakteriler için fenotipik doğrulama testlerinden biri yapılarak GSBL varlığı doğrulanır [22].

2.8.2. GSBL Fenotipik Doğrulama Testleri

GSBL aktivitesinin in vitro koşullarda, klavulanik asit ile inhibisyonu temeline dayanan testlerdir. Kombinasyon disk testi, çift disk sinerji testi, GSBL gradiyent şerit testi ve sıvı mikrodilüsyon testi fenotipik doğrulama testlerindendir. Yapılan araştırmalara göre kombinasyon disk testi, GSBL gradiyent testiyle aynı duyarlılığa sahiptir ancak bu teste kıyasla özgüllüğü daha yüksektir. Otomatize sistemlerde, duyarlılık test panellerine GSBL üretimini saptamak için, klavulanik asit ile inhibisyonu gösteren testler eklenmiştir [52].

Kombinasyon Disk Testi

Test edilecek her bakteri için, sefalosporin diskleri (sefotaksim, seftazidime, sefepim) ve aynı sefalosporinin klavulanik asit eklenmiş kombinasyon diskleri kullanılır. Her iki diskin etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçülür. Kombinasyon diski etrafındaki inhibisyon zonu, tek başına sefalosporin içeren diskin etrafında oluşan inhibisyon zonundan ≥ 5 mm daha genişse test pozitif olarak değerlendirilir [52].

Çift Disk Sinerji Testi

Sefalosporin (sefotaksim, seftazidime, sefepim) içeren diskler, plakta klavulanik asit içeren bir diskin (örneğin amoksisilin-klavulanik asit) yanına konur. Diskler arasındaki optimal uzaklık, sefalosporin 30µg diskleri için 20 mm olarak belirlenmiştir. Sefalosporin disklerinden herhangi birinin zon çapı klavulanik asit diskine bakan yüzünde genişlerse veya arada üremenin olmadığı bir “anahtar deliği” görülürse, test pozitif olarak değerlendirilir [52].

Gradyent Test Yöntemi

Gradyent test şeritleri üretici firma önerilerine göre hazırlanır ve değerlendirilir. Klavulanik asit ile kombine edildiğinde sefalosporin MİK değerinde 8 kattan fazla düşüş varsa veya elips şeklinde bir bozulma ya da “hayalet zon” oluşumu gözleniyorsa test pozitifdir [52].

Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Sıvı mikrodilüsyon; sefotaksim, seftazidim ve sefepimin 0.125-512 mg/L arasındaki seri iki katlı dilüsyonlarını tek başlarına veya sabit konsantrasyonda (4mg/L) klavulanik asit ile birlikte içeren Mueller–Hinton sıvı besiyeri kullanılarak uygulanır. Klavulanik asit ile kombine edilen sefalosporin MİK değeri, sefalosporin tek başına olduğunda ölçülen MİK değerinden 8 kattan fazla düşükse test pozitifdir [52].

3. MATERYAL VE METHOD

Bu çalışmada, steril vücut sıvılarında üretilen etkenlerin hızlı tanımlaması ve EUCAST HADT yapıldı. Sonuçlar rutin tanımlama sonuçları ve standart bir yöntem olan disk difüzyon testi sonuçlarıyla karşılaştırıldı. Çalışmanın etik kurul onayı Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan (18.01.2023 tarih ve 2023-01/44 sayılı karar) alındı ve çalışma T-2023-1008 numaralı “Steril Vücut Sıvılarından Üretilen Etkenlerin Hızlı Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi” adlı uzmanlık tezi projesi olarak Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (CÜBAP) tarafından desteklendi.

3.1. Araç, Gereç ve Malzemeler

BACTEC FX otomatize kültür sistemi cihazı (Becton Dickinson, ABD)

BD BACTEC™ PLUS Aerobic/F Medium, Anaerobic/F Medium, PEDS PLUS Medium kültür şişeleri (Becton Dickinson, ABD)

BD Phoenix™ otomatize sistemi (Becton Dickinson, ABD)

MALDI Biotyper Microflex LT cihazı (Bruker Daltonics, Almanya)

Etüv (Nüve, Türkiye)

McFarland cihazı (Becton Dickinson, ABD)

Santrifüj cihazı (Hettich, Almanya)

Mikropipetler (Eppendorf, Almanya)

Eküvyonlar (İsolab, Türkiye)

Filtreli pipet uçları: 10 µl, 1000 µl (SeHagen, Türkiye)

Steril petri kapları (İsolab, Türkiye)

3.2. Çeşitli Kimyasallar, Çözeltiler

Matriks solüsyonu (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid in %50 acetonitrile-%2,5 trifluoroacetic acid, Bruker Daltonics, Almanya)

Formik asit (Merck, Almanya)

Asetonitril (Merck, Almanya)

Tween 80 ® çözeltisi (Merck, Almanya)

3.3. Kullanılan Besiyerleri

Mueller-Hinton Agar (Condalab, İspanya): Toz besiyeri 38g/L olacak şekilde tartıldı ve 1000 ml saf suda çözdürüldükten sonra otoklavda 121 °C’de 15 dakika steril edildi. Daha sonra 45-55 °C’ye soğutulup, besiyeri kalınlığı 4 mm $\pm$ 0,5 mm olacak şekilde 90 mm çaplı steril petri kaplarına döküldü ve katılaştıktan sonra +4 °C’ye kaldırıldı.

Kanlı Besiyeri (Kalibre, Türkiye): Hazır ticari besiyeri kullanıldı.

3.4. Antibiyotik Diskleri (Bioanalyse, Türkiye)

Testlerde kullanılan antibiyotikler şöyledi; Ampisilin (2 µg), ampisilin (10 µg), amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg), piperasilin/tazobaktam (30/6 µg), sefepim (30 µg), sefoksitin (30 µg), sefotaksim (5 µg), seftazidim (10 µg), seftriakson (30 µg), seftazidim/avibaktam (10/4 µg), ertapenem (10 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), siprofloksasin (5 µg), levofloksasin (5 µg), norfloksasin (10 µg), amikasin (30 µg), gentamisin (10 µg), tobramisin (10 µg), vankomisin (5 µg), linezolid (10 µg), trimetoprim/sulfametoksazol (1.25/23.75 µg), sefotaksim/klavulanik asit (30/10 µg), seftazidim/klavulanik asit (30/10 µg).

3.5. Yöntemler

3.5.1. Çalışmaya Alınan Örneklerle uygulanan işlemler

Çalışma, Ekim 2023- Şubat 2024 tarihleri arasında prospektif olarak gerçekleştirildi. Bu süreçte Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi çeşitli poliklinik ve kliniklerden Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına kültür işlemlerinin gerçekleştirilmesi

için gönderilen kan, BOS, plevral sıvı, eklem sıvısı ve periton sıvısı örnekleri çalışmaya dahil edildi. Kan kültürü örnekleri, ilgili klinikte kan kültürü alma prosedürü uygulanarak alınıp, kültür şişelerine ekimi yapılarak Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderildi. Kliniklerden gönderilen kan kültürü şişeleri BACTEC FX otomatize kültür sistemi cihazında (Becton Dickinson, ABD) inkübasyona alındı. BOS, plevral sıvı, eklem sıvısı ve periton sıvısı örnekleri laboratuvara ulaştığında öncelikle lökosit, eritrosit, bakteri varlığı araştırılması amacıyla direkt mikroskopik inceleme ve bakteri varlığı araştırılması için gram boyalı mikroskopi incelemeleri yapıldı. Ardından, 1-3 mL steril sıvı örneği BACTEC Peds Plus/F şişesine (Becton Dickinson, ABD) ekildi ve kültür şişeleri BACTEC FX otomatize kültür sistemi cihazında (Becton Dickinson, ABD) inkübasyona alındı. İnkübasyon sırasında pozitif sinyal veren kültür şişeleri cihazdan çıkarıldı ve mikroskopi, kültür ve antibiyotik duyarlılık test işlemlerine başlandı. Direkt mikroskopik incelemede ve kültür sonucunda polimikrobiyal üreme olan veya HADT yönteminde sınır değeri bulunmayan bakterilerin ürettiği kültür şişeleri çalışma dışında bırakıldı. Toplamda 153 kültür şişesinden üretilen 153 bakteri izolatu çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan kültür şişelerinden iki farklı yöntemle bakteri tanımlaması yapıldı. Birinci yöntemde üreme sinyali alınan kültür şişelerinden hızlı tanımlama protokolü kullanılarak MALDİ-TOF MS ile bakteriler tanımlandı, ikincisinde rutin yöntemlerle plaklarda üretilen bakteri kolonisinden MALDİ-TOF MS ile tanımlama yapıldı. Her iki yöntemden elde edilen tanımlama sonuçları karşılaştırıldı.

Üreme sinyali alınan kültür şişelerinden alınan örneklere HADT ile antibiyotik duyarlılık testi uygulandı. Ayrıca kültür şişelerinden rutin yöntemlerle üretilen bakteri izolatlarının antibiyotiklere duyarlılıkları standart disk difüzyon yöntemi ve rutin laboratuvar uygulamasında kullanılan otomatize sistem (Phoenix) ile araştırıldı. HADT yöntemi sonuçları, otomatize sistem ve standart disk difüzyon yöntemi sonuçlarıyla karşılaştırıldı.

3.5.2. Steril sıvı kültürlerinde üreyen bakterilerin rutin mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlanması

BACTEC kültür şişelerinin inkübasyonları sırasında pozitif üreme sinyali veren örneklerden steril bir enjektör yardımıyla 1-2 mL sıvı alındı. Alınan örneklerden gram boyalı preparat hazırlandı. Preparatların mikroskopik incelemelerinde görülen bakterilerin gram boyanma özellikleri ve morfolojileri not edildi. Daha sonra laboratuvar rutin uygulamalarına göre kültür şişelerinden alınan örnekler kanlı besiyerine ekildi ve plaklar 35 °C’de 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üreyen bakteri kolonilerinden MALDİ-TOF MS cihazı ile tür tanımlaması gerçekleştirildi.

3.5.3. Steril sıvı kültürlerinde üreyen bakterilerin Tween® 80 Ekstraksiyonu ile Hızlı Tanımlama Protokolü Uygulanarak Tanımlanması

Kültür şişelerinde üreme sinyali alınan şişelerden alınan örneklerle hızlı tanımlama yöntemlerinden biri olan Tween® 80 ekstraksiyon yöntemi uygulandı ve MALDI-TOFF MS cihazında üreyen bakterilerin tanımlaması yapıldı. Yöntemin çalışma basamakları şöyledir; [53] [54]

1. Pozitif üreme sinyali alınan kültür şişesinden 1 ml örnek alınarak mikrosantrijüf tüpüne aktarıldı.
2. Alınan örneğin üzerine 100 µL %10’luk Tween® 80 çözeltisi eklenerek 15-20 saniye vortekslendi ve 2.000 devirde 30 saniye santrifüj edildi.
3. Santrifüjden sonra oluşan süpernatant başka bir mikrosantrijüf tüpüne aktarıldı ve 13.000 devirde 5 dakika santrifüj edildi.
4. Santrifüj sonrasında, süpernatant atıldı ve dipte kalan bakteri peleti 1 mL serum fizyolojik ile 3 kez yıkanarak süspanse edildi, 15-20 saniye vortekslendi ve 13.000 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Ardından süpernatant atıldı ve dipte kalan pelet oda sıcaklığında kurutuldu.
5. Pelet kuruduktan sonra 25 µL %70 formik asit ve 25 µL asetronitril ile süspanse edildi, 15-20 saniye vortekslendi ve 13.000 devirde 2 dakika santrifüj edildi.

6. Süpernatandan 1 µL alınarak bakteri tanımlaması için kullanılan metal plaka üzerine sürüldü. Oda sıcaklığında kuruduktan sonra üzerine 1 µL matriks solüsyonundan eklendi.
7. Matriks solüsyonu kuruduktan sonra metal plaka MALDI-TOF MS cihazına yerleştirildi ve lazer atışları yapılarak bakteri tanımlaması yapıldı.

Üretici firma önerilerine göre tür düzeyinde güvenilir bir tanımlama (yeşil) için ≥ 2.000 skorlar ve muhtemel cins düzeyinde tanımlama (sarı) için 1.700-1.999 arasındaki skorlar dikkate alındı. 1.700 skor değerinin altında kalan tanımlamalar (kırmızı) güvenilir olmayan sonuç olarak değerlendirildi.

3.5.4. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Çalışmamızda steril sıvı kültürlerinden pozitif üreme sinyali veren örneklerle HADT yöntemiyle hızlı antibiyotik duyarlılık testi uygulandı. Bu örneklerden rutin mikrobiyolojik yöntemlerle izole edilen izolatların standart disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı ve aynı izolatların rutin otomatize sistemle elde edilen antibiyotik duyarlılık test sonuçları da değerlendirildi. Çalışmada gram negatif bakterilerden *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* ve gram pozitif bakterilerden *S.aureus*, *E.faecalis* ve *E.faecium* olarak tanımlanan izolatların antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı.

3.5.5. HADT Yönteminin Uygulanması

BACTEC sisteminde pozitif üreme sinyali veren kültür şişeleri alındı ve rutin mikrobiyolojik işlemlerinin hemen sonrasında, örneklerin HADT yöntemiyle antibiyotik duyarlılık işlemleri yapıldı. Kültür sıvılarından 125 ± 25 µL alındı ve 90 mm çaplı Mueller Hinton Agar (MHA) plaklarına inoküle edildi ve sıvının besiyerinin tüm yüzeyine yayılması sağlandı. Kültürlerin hızlı tanımlama sonuçlarına göre test edilecek antibiyotik diskleri belirlendi ve ekim yapılmış MHA plaklarına antibiyotik diskleri yerleştirildi. Plaklar 35 °C’de normal atmosfer basınçta inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde ± 5 dakika içinde plaklar değerlendirildi. Antibiyotik diskleri etrafında oluşan inhibisyon zon çapları HADT yöntemindeki yönergeler dikkate alınarak ölçüldü ve kaydedildi. Bir sonraki inkübasyon saatine kadar plaklar hemen inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun 4., 6. ve 8. saatlerinde

ölçülen antibiyotik diskleri çevresindeki inhibisyon zon çapları EUCAST HADT v 6.1 sınır değerler tablolarındaki (Tablo 3.2 – Tablo 3.8) değerlerle karşılaştırıldı. Test edilen antibiyotikler “duyarlı, dirençli ve teknik belirsizlik alanında” olarak değerlendirildi. Kültür şişelerinde üreyen ve hızlı tanımlama yöntemiyle *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *A.baumannii*, *S.aureus*, *E.faecalis* ve *E.faecium* olarak tanımlanan örnekler üzerine uygulanan HADT antibiyotik duyarlılık deneylerinde kullanılan antibiyotikler Tablo 3.1’de verildi.

Tablo 3.1. HADT’inde kullanılan antibiyotikler

Etken	Antibiyotik diskleri
<i>E.coli</i>, <i>K.pneumoniae</i>	Ampisilin 10 µg, Amoksisilin klavulanik asit 20/10 µg, Piperasilin tazobaktam 30/6 µg , Sefotaksim 5 µg, Seftazidim 10 µg, Seftriakson 30 µg , Seftazidim avibaktam 10/4 µg, Ertapenem 10 µg , İmipenem 10 µg, Meropenem 10 µg , Siprofloksasin 5 µg , Levofloksasin 5 µg , Amikasin 30 µg , Gentamisin 10 µg , Tobramisin 10 µg, Trimetoprim/sulfametoksazol 1.25/23.75 µg
<i>P.aeruginosa</i>	Piperasilin/tazobaktam 30/6 µg, Sefepim 30 µg, Seftazidim 10 µg, Seftazidim/avibaktam 10/4 µg, İmipenem 10 µg, Meropenem 10 µg, Siprofloksasin 5 µg, Levofloksasin 5 µg, Amikasin 30 µg, Tobramisin 10 µg
<i>A.baumannii</i>	İmipenem 10 µg, Meropenem 10 µg, Siprofloksasin 5 µg, Levofloksasin 5 µg, Amikasin 30 µg, Gentamisin 10µg,Tobramisin10µg, Trimetoprim/sulfametoksazol 1.25/23.75 µg
<i>S.aureus</i>	Sefoksitin 30 µg, Norfloksasin 10 µg, Amikasin 30 µg, Gentamisin 10 µg, Tobramisin 10 µg
<i>E.faecalis</i> ve <i>E.faecium</i>	Ampisilin 2 µg, İmipenem 10 µg, Vankomisin 5 µg, Linezolid 10 µg

Tablo 3.2. *E.coli* 'ye ait HADT sınır değeri tablosu

Antibiyotikler	4. saat			6. saat			8. saat		
	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <
Ampisilin	12	10-11	10	13	11-12	11	13	11-12	11
Amoksisilin-klavulanik asit	16	14-15	14	17	15-16	15	17	15-16	15
Piperasilin-tazobaktam	17	14-16	14	18	15-17	15	18	15-17	15
Sefotaksim	15	13-14	13	16	14-15	14	17	15-16	15
Seftazidim	15	12-14	12	16	14-15	14	17	15-16	15
Seftazidim-avibaktam	12	10-11	10	12	10-11	10	12	10-11	10
İmipenem	16	12-15	12	17	13-16	13	17	13-16	13
Meropenem	17	15-16	15	17	15-16	15	17	15-16	15
Siprofloksasin	17	14-16	14	19	16-18	16	20	17-19	17
Levofloksasin	16	14-15	14	18	15-17	15	18	15-17	15
Amikasin	(15)	(13-14)	(13)	(15)	(13-14)	(13)	(15)	(13-14)	(13)
Gentamisin	(14)	(12-13)	(12)	(14)	(12-13)	(12)	(14)	(12-13)	(12)
Tobramisin	(14)	(12-13)	(12)	(15)	(13-14)	(13)	(15)	(13-14)	(13)
Trimetoprim/sulfametoksazol	12	10-11	10	14	12-13	12	14	12-13	12

Tablo 3.3. *K.pneumoniae* ' ya ait HADT sınır değeri tablosu

Antibiyotikler	4. saat			6. saat			8. saat		
	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <
Amoksisilin-klavulanik asit	15	13-14	13	16	14-15	14	16	14-15	14
Piperasilin-tazobaktam	15	13-14	13	16	14-15	14	16	14-15	14
Sefotaksim	15	12-14	12	18	15-17	15	18	15-17	15
Seftazidim	15	13-14	13	16	14-15	14	16	14-15	14
Seftazidim-avibaktam	12	10-11	10	13	11-12	11	13	11-12	11
İmipenem	16	14-15	14	17	15-16	15	17	15-16	15
Meropenem	15	13-14	13	17	15-16	15	17	15-16	15
Siprofloksasin	17	15-16	15	18	16-17	16	18	16-17	16
Levofloksasin	17	14-16	14	18	15-17	15	18	15-17	15
Amikasin	(15)	(13-14)	(13)	(14)	(12-13)	(12)	(14)	(12-13)	(12)
Gentamisin	(14)	(12-13)	(12)	(14)	(12-13)	(12)	(13)	(11-12)	(11)
Tobramisin	(14)	(12-13)	(12)	(13)	(11-12)	(11)	(13)	(11-12)	(11)
Trimetoprim/sulfametoksazol	11	9-10	9	11	9-10	9	11	9-10	9

Tablo 3.4. *P.aeruginosa* 'ya ait HADT sınır değer tablosu

Antibiyotikler	6. saat			8. saat		
	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <
Piperasilin-tazobaktam	50	13-15	13	50	14-16	14
Sefepim	50	15-16	15	50	15-16	15
Seftazidim	50	12-14	12	50	13-15	13
Seftazidim-avibaktam	15	13-14	13	16	14-15	14
İmipenem	50	15-16	15	50	15-16	15
Meropenem	16	14-15	14	16	14-15	14
Siprofloksasin	50	17-18	17	50	20-21	20
Levofloksasin	50	14-15	14	50	15-16	15
Amikasin	(15)	(13-14)	(13)	(14)	(13)	(13)
Tobramisin	(14)	(13)	(13)	(15)	(14)	(14)

Tablo 3.5. *A.baumannii* 'ye ait HADT sınır değer tablosu

Antibiyotikler	4. saat			6. saat			8. saat		
	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <
İmipenem	18	16-17	16	19	17-18	17	19	17-18	17
Meropenem	14	12-13	12	17	15-16	15	18	16-17	16
Siprofloksasin	50	14-15	14	50	15-16	15	50	16-17	16
Levofloksasin	17	15-16	15	18	16-17	16	19	17-18	17
Amikasin	VY	(13-50)	(13)	(15)	(13-14)	(13)	(15)	(13-14)	(13)
Gentamisin	(14)	(12-13)	(12)	(14)	(12-13)	(12)	(15)	(13-14)	(13)
Tobramisin	(14)	(12-13)	(12)	(14)	(12-13)	(12)	(14)	(12-13)	(12)
Trimetoprim/sulfametoksazol	13	6-12	VY	13	10-12	10	13	10-12	10

Tablo 3.6. *S.aureus* 'a ait HADT sınır değer tablosu

Antibiyotikler	4. saat			6. saat			8. saat		
	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <
Sefoksitin	16	15	15	18	17	17	19	18	18
Norfloksasin	13	11-12	11	14	13	13	15	14	14
Amikasin	(12)	(11)	(11)	(13)	(12)	(12)	(14)	(13)	(13)
Gentamisin	(14)	(12-13)	(12)	(15)	(13-14)	(13)	(15)	(13-14)	(13)
Tobramisin	(15)	(13-14)	(13)	(16)	(14-15)	(14)	(16)	(14-15)	(14)

Tablo 3.7. *E.faecalis* 'e ait HADT sınır değer tablosu

Antibiyotikler	4. saat			6. saat			8. saat		
	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <
Ampisilin	9	6-8	VY	9	6-8	VY	9	6-8	VY
İmipenem	50	6-13	VY	50	6-14	VY	50	6-15	VY
Vankomisin	VY	10-50	10	VY	10-50	10	VY	10-50	10
Linezolid	17	14-16	14	17	14-16	14	17	14-16	14

Tablo 3.8. *E.faecium* 'a ait HADT sınır değer tablosu

Antibiyotikler	4. saat			6. saat			8. saat		
	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <
Ampisilin	10	8-9	8	10	8-9	8	10	8-9	8
İmipenem	18	13-17	13	17	14-16	14	19	16-18	16
Vankomisin	VY	12-50	12	VY	13-50	13	VY	13-50	13
Linezolid	VY	VY	VY	19	17-18	17	19	17-18	17

HADT ile *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz (GSBL) Taraması

E.coli ve *K.pneumoniae* bulunan örneklerin HADT sonuçları bakterilerde GSBL varlığının belirlenmesi amacıyla da değerlendirildi. GSBL taraması için sefotaksim ve seftazidim disklerine ait inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde okunan inhibisyon zon çapları EUCAST HADT v 6.1 GSBL tarama eşik değerleri tablosundaki (Tablo 3.9) değerlerle karşılaştırıldı. Tarama sonucu GSBL pozitif veya negatif olarak not edildi. Çalışmanın sonunda *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarına fenotipik GSBL testleri yapılarak GSBL üretimi olup olmadığı doğrulandı [52].

Tablo 3.9. *E.coli* ve *K.pneumoniae* için HADT GSBL tarama eşik değerleri

Bakteri türü	Antimikrobiyal ajan	4. saat	6. saat	8. saat
<i>E.coli</i>	Sefotaksim 5 µg	<15	<16	<17
	Seftazidim 10 µg	<15	<16	<17
<i>K.pneumoniae</i>	Sefotaksim 5 µg	<15	<18	<18
	Seftazidim 10 µg	<15	<16	<16

3.5.6. Disk Difüzyon Antibiyotik Duyarlılık Yönteminin Uygulanması

Rutin mikrobiyolojik yöntemlerle steril sıvılardan üretilen 153 izolatın standart disk difüzyon yöntemiyle antibiyotiklere duyarlılık deneyleri yapıldı. Çalışma gününe kadar -20 °C’de yağsız sütte bekletilmiş izolatların, koyun kanlı agara pasajları yapıldı. Besiyerleri 35°C’da 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda izolatların 0,5 McFarland 0,5 bulanıklığında süspansiyonları hazırlandı ve MHA besiyerlerine ekildi. Her izolat için EUCAST disk difüzyon testi yönergesinde kullanılması önerilen antibiyotikler ekim yapılmış plaklara yerleştirildi. MHA plakları 35°C’da 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında antibiyotik disklerinin çevresinde oluşan inhibisyon zonları ölçüldü ve EUCAST tablo değerleriyle karşılaştırılarak antibiyotikler duyarlı ve dirençli orta duyarlı olarak belirlendi. Sonuçlar, HADT sonuçlarıyla karşılaştırıldı.

3.5.7. Kombine Disk Difüzyon Yöntemiyle *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarında GSBL Üretiminin Doğrulanması

Çalışmaya alınan *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının tamamına kombine disk difüzyon testiyle doğrulama testleri yapıldı. İzolatların koyun kanlı agarda yapılan taze pasajlarından 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyonlar hazırlandı ve MHA plaklarına yayma ekimler yapıldı. Daha sonra plaklara seftazidim 30 µg, seftazidim/klavulanik asit 30/10 µg ve sefotaksim 30 µg, sefotaksim/klavulanik asit 30/10 µg diskleri yerleştirildi ve 35°C’da 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucu oluşan zon çapları ölçüldü. Sefolosporin grubu antibiyotik ve aynı antibiyotiğin klavulanik asitli kombinasyonu arasındaki zon çapı farkı >5 mm ise test GSBL pozitif olarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar, HADT yöntemi sonuçlarıyla karşılaştırıldı.

3.5.8. Otomatize Sistem ile (Phoenix) Antibiyotik Duyarlılık Testinin Uygulanması

Steril vücut sıvılarında üretilen izolatların rutin laboratuvar işlemlerinde yer alan antibiyotik duyarlılık test sonuçları da değerlendirildi. Üreme sinyali veren kültür

şişelerinden üretilen izolatların otomatize sistem (Phoenix) ile antibiyotik duyarlılık deneyleri yapıldı. Sonuçlar HADT ve disk difüzyon testi sonuçlarıyla karşılaştırıldı.

3.6. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmamızın verileri SPSS 27.0.1 (Statistical Package for the Social Sciences) programında değerlendirildi. HADT yöntemine ait zon çapları değerlendirilirken EUCAST HADT zon sınır tablo değerleri v 6.1 (2023), disk difüzyon yöntemine ait zon çapları değerlendirilirken EUCAST zon sınır değerleri v 14.0 (2024) kullanıldı.

Referans bir yöntem olan disk difüzyon yöntemi sonuçları ile HADT sonuçları karşılaştırılarak HADT yönteminin; çok büyük hata (referans yöntem sonucu dirençli iken HADT yönteminde sonucun duyarlı bulunması), büyük hata (referans yöntem sonucu duyarlı iken HADT yöntemindeki sonucun dirençli bulunması), küçük hata (referans yöntem sonucu orta duyarlı iken HADT yöntemindeki sonucun duyarlı veya dirençli bulunması) sayı ve oranları hesaplandı. Ayrıca HADT yönteminin kategorik uyumu (HADT yöntemiyle elde edilen antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının, EUCAST disk difüzyon duyarlılık sonuçlarına göre uyumu) hesaplandı.

$$\text{ÇBH oranı} = \text{ÇBH sayısı} / \text{Referans testteki dirençli organizma sayısı} \times 100$$

$$\text{BH oranı} = \text{BH sayısı} / \text{Referans testteki duyarlı organizma sayısı} \times 100$$

$$\text{KH oranı} = \text{KH sayısı} / \text{Referans testteki toplam organizma sayısı} \times 100$$

$$\text{Kategorik uyum} = \frac{\text{Örtüşen kategorik sonuçların sayısı}}{\text{toplam test sonuçlarının sayısı}} \times 100$$

HADT yönteminde ATU olarak değerlendirilen sonuçların, duyarlılık sınıflandırması yapılamadığı için hesaplamalardan muaf tutuldu.

Testin uygulanabilirliği FDA kriterlerine göre (testin kategorik uyumunun $\geq 90\%$, çok büyük hata oranının $\leq 1,5\%$, büyük hata oranının $\leq 3,0\%$ ve küçük hata oranının $< 10\%$ olması) değerlendirildi [55].

4. BULGULAR

Çalışmada, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına hastanenin çeşitli kliniklerden gönderilen 199 hastanın steril vücut sıvısı örneği incelendi. Bu örnekler içinde polimikrobiyal üremenin olduğu 14 örnek ve hızlı antibiyotik duyarlılık test yönteminde antibiyotikler için sınır değerleri bulunmayan bakteri türlerinin (3 *Serratia marcescens*, 4 *Proteus vulgaris*, 4 *Hafnia alvei*, 5 *Enterobacter cloacae*, 11 koagülaz negatif stafilokok, 1 *Moraxella catarrhalis*, 1 *Morganella morganii*, 1 *Providencia stuartii*, 1 *Granulicatella adiacens* izolatı) ürettiği 32 örnek çalışma dışı bırakıldı. Böylece toplam 153 steril vücut sıvısı örneği ve bu örneklerin kültüründen üretilen 153 izolat çalışmaya alındı.

Çalışmaya alınan steril vücut sıvı örneklerinin 142'si kan, 4'ü plevra sıvısı, 4'ü eklem sıvısı, 2'si BOS ve birer örnek ise, plevra ve periton sıvılarıydı. Bu örneklerin kültürlerinden konvansiyonel yöntemlerle tanımlanan izolatların 52'si *E.coli*, 31'i *K.pneumoniae*, 9'u *P.aeruginosa*, 4'ü *A.baumannii*, 45'i *S.aureus*, 8'i *E.faecalis*, 4'ü *E.faecium*'du. İzolatların üretildikleri steril vücut sıvı türlerine göre dağılımları Tablo 4.1'de verildi.

Tablo 4.1. Steril vücut sıvı örneklerinden üretilen bakteri izolatlarının dağılımı.

	Kan	BOS	Plevra s.	Eklem s.	Periton s.
<i>E.coli</i> (s=52)	49	1	1	-	1
<i>K.pneumoniae</i> (s=31)	29		2		
<i>P.aeruginosa</i> (s=9)	9				
<i>A.baumannii</i> (s=4)	4				
<i>S.aureus</i> (s=45)	40		1	4	
<i>E.faecalis</i> (s=8)	7	1			
<i>E.faecium</i> (s=4)	4				
Toplam (s=153)	142	2	4	4	1

Steril Vücut Sıvı Kültürlerine Uygulanan Hızlı Tanımlama Yöntemi Sonuçları

BACTEC kültür şişelerine ekilen ve BACTEC FX sisteminde inkübasyona bırakılan kültür şişelerinden üreme sinyali alınanlara Tween 80 ekstraksiyonu ile hızlı tanımlama yöntemi uygulandı. Hızlı tanımlama yöntemiyle elde edilen sonuçlar, rutin

tanımlama yöntemleriyle elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı ve izolatların tür ve cins düzeyinde doğru tanımlanma oranları Tablo 4.2.'de verildi. Gram pozitif bakterilerden 4 izolat (2 *S.aureus*, 1 *E.faecalis*, 1 *E.faecium*) hızlı tanımlama yöntemiyle tanımlanamadı. Toplamda 153 kültür şişesinin 90'ı tür düzeyinde (% 58,8) ve 149'u cins düzeyinde (% 97,3) tanımlandı. Gram negatif bakteriler için hızlı tanımlama yönteminin tür düzeyinde tanımlama başarısı %78,1 cins düzeyinde %100; gram pozitif bakteriler için tür düzeyinde tanımlama başarısı % 26,3, cins düzeyinde % 93 bulundu (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Steril sıvı kültürlerinde üreyen izolatların hızlı tanımlama yöntemiyle tür ve cins düzeyinde doğru tanımlanma oranları

		Toplam %	Kan %	BOS %	Plevra s. %	Eklem s. %	Periton s. %
<i>E.coli</i> (s=52)	Tür: 48	92,3	93,9	-	100	-	100
	Cins: 52	100	100	100	100	-	100
<i>K.pneumoniae</i> (s=31)	Tür: 23	83,8	79,3	-	-	-	-
	Cins: 31	100	100	-	100	-	-
<i>P.aeruginosa</i> (s=9)	Tür: 3	33,3	33,3	-	-	-	-
	Cins: 9	100	100	-	-	-	-
<i>A.baumannii</i> (s=4)	Tür: 1	25	25	-	-	-	-
	Cins: 4	100	100	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> (s=45)	Tür: 14	31,1	35	-	-	-	-
	Cins: 43	95,5	95	-	100	100	-
<i>E.faecalis</i> (s=8)	Tür: 1	12,5	-	100	-	-	-
	Cins: 7	75	85,8	100	-	-	-
<i>E.faecium</i> (s=4)	Tür: 0	-	-	-	-	-	-
	Cins: 3	75	75	-	-	-	-
Toplam (s=153)	Tür: 90	58,8	61,2	50	25	-	100
	Cins: 149	97,3	97,1	100	100	100	100

Steril Sıvı Kültürlerinde Üreyen İzolatların HADT ve Standart Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması

Toplam 153 steril sıvı örneğinden üreyen izolatlara HADT ile antibiyotik duyarlılık deneyleri uygulandı ve inkübasyonun 4., 6., 8. saatlerinde oluşan inhibisyon zon çapları ölçüldü (Şekil 4.1). Bulunan değerler HADT sınır değerleri tablolarındaki değerlerle karşılaştırılarak, antibiyotiklerin duyarlı, dirençli ve teknik belirsizlik alanında (ATU) olduğu belirlendi. HADT sonuçları disk difüzyon testi sonuçlarıyla karşılaştırılarak, HADT için çok büyük hata (HADT ile duyarlı bulunup standart disk difüzyon metoduyla dirençli bulunması), büyük hata (HADT ile dirençli bulunup standart disk difüzyonla duyarlı bulunması), küçük hata (HADT ile duyarlı veya dirençli bulunan bir antibiyotiğin standart disk difüzyon ile orta duyarlı olması) değerleri hesaplandı.

HADT’inde toplam 153 izolat için 4., 6., ve 8. inkübasyon saatlerinde okunması beklenen teorik zon çapları sayıları sırasıyla, 1436 (*P.aeruginosa* için yöntemde 4. saat için zon sınır değerleri bulunmamaktadır), 1526 ve 1526’ydı. Sonuçlara bakıldığında, inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde okunabilen inhibisyon zonları sırasıyla, 1385, 1525, 1526, bu sayıların toplam teorik zon sayılarına oranları sırasıyla %96,4, %99,9 ve %100 olarak bulundu. İnkübasyon saati arttıkça okunabilen zonların sayısının arttığı gözlemlendi (Tablo 4.3).

Her bir izolata uygulanan HADT’inde antibiyotik disklerinin çevresinde oluşan inhibisyon zon çapları HADT sınır değerler tablolarına göre karşılaştırıldı ve antibiyotikler duyarlı veya dirençli olarak değerlendirildi. Sınır değerleri tablolarına göre yorumlanamayan sonuçlar teknik belirsizlik alanında (ATU) kabul edildi. Test edilen tüm antibiyotikler için ATU olarak değerlendirilen sonuçlar 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla 177 (%12,8), 120 (%7,9) ve 95’i (%6,2). ATU sonuçlarının inkübasyon saati arttıkça azaldığı gözlemlendi (Tablo 4.3).

Standart disk difüzyon testi sonuçları ve HADT sonuçları karşılaştırıldığında, HADT ın çok büyük hata (ÇBH) sayıları 4. 6. ve 8. okuma saatlerinde sırasıyla 40, 34 ve 36, büyük hata (BH) sayıları 13, 13 ve 10, küçük hata (KH) sayıları 6, 9 ve 10 olarak hesaplandı. HADT yönteminin standart disk difüzyon yöntemine göre kategorik uyumu, 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %95,1, %96,0 ve %96,1 olarak hesaplandı.

Tablo 4.3. Kan ve diğer steril sıvı izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması

	HADT								Disk difüzyon testi		
	İ.S.	Test sayısı	Oku. zon	ATU s	KU %	ÇBH s	BH s	KH s	S s	R s	I s
Toplam	4	1436	1385	177	95,1	40	13	6	1009	505	12
izolatlar	6	1526	1525	120	96	34	13	9			
	8	1526	1526	95	96,1	36	10	10			

İ.S.=İnkübasyon süresi, Oku. Zon= okunabilen inhibisyon zon sayısı, ATU= Teknik belirsizlik alanında kalan zon sayısı, KU=Kategorik uyum, ÇBH=Çok büyük hata, BH=Büyük hata, KH=Küçük hata, S=Duyarlı, R=Dirençli, I=Orta duyarlı



E.coli 4. saat plak görünümü



E.coli 6. saat plak görünümü



E.coli 8. saat plak görünümü

Şekil 4.1. HADT nin 4-6-8. inkübasyon saatlerinde fotoğraflanan plak görünümleri (bir *E.coli* izolatının örnek görünümü)

***E.coli* İzolatlarının HADT, Standart Disk Difüzyon ve Otomatize Sistemle Elde Edilen Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları**

Steril sıvı kültürlerinden izole edilen 52 *E.coli* izolatının HADT, disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistemle yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 4.4'te verildi. HADT 8. saatindeki direnç oranları; sefotaksime %46,2, siprofloksasine %46,2, levofloksasine %42,3, ampisiline %40,4, trimetoprim sülfametoksazole %30,8, seftazidime %26,9, amoksisilin klavulanik asite %17,3, piperasilin tazobaktama %9,6, meropeneme %5,8, gentamisine %3,9, imipeneme %3,8, tobramisine %3,8, amikasinine %1,9, ve seftazidim avibaktama %1,9 olarak bulundu.

Disk difüzyon ile izolatların antibiyotiklere direnç oranları; ampisiline %65,4, amoksisilin klavulanik asite %55,8, siprofloksasine %51,9, levofloksasine %50, sefotaksime %48,1, seftazidime %44,2, trimetoprim sülfametoksazole %38,5, gentamisine %9,6, piperasilin tazobaktama %9,6, tobramisine %9,6, imipeneme %5,8, meropeneme %5,8, amikasinine %1,9 ve seftazidim avibaktama %1,9 bulundu.

Otomatize sistemle direnç oranları; ampisilinde %65,4, levofloksasinde %53,9, siprofloksasinde %53,9, seftazidimde %46,2, amoksisilin klavulanik asitte %40,4, trimetoprim sülfametoksazolde %32,7, piperasilin tazobaktamda %15,4, gentamisinde %13,5, amikasininde %5,8, imipenemde %5,8 ve meropenemde %5,8 bulundu.

Tablo 4.4. *E.coli* izolatlarının HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemle yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları

HADT					Disk Difüzyon			Otomatize Sistem		
A	İ.S.	ATU S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	OD. S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	OD S %
AK	4	9 (17,3)	42(80,8)	1	51	1	-	49	3	-
	6	1 (98,0)	50 (98,0)	1 (1,9)	(98,1)	(1,9)		(94,2)	(5,8)	
	8	1	50	1						
AM	4	4 (7,7)	28 (53,8)	20 (38,5)	18	34	-	18	34	-
	6	5 (9,6)	26 (50,0)	21 (40,4)	(3,5)	(65,4)		(34,6)	(65,4)	
	8	5	26	21						
AMC	4	14 (26,9)	22 (42,3)	16 (30,8)	23	29	-	31	21	-
	6	19 (36,5)	22	11 (21,2)	(44,2)	(55,8)		(59,6)	(40,4)	
	8	13 (25,0)	30 (57,7)	9 (17,3)						
CAZ	4	17 (32,7)	19 (36,5)	13 (25,0)	28	23	1	28	24	-
	6	7 (13,5)	32 (61,5)	13	(53,9)	(44,2)	(1,9)	(53,8)	(46,2)	
	8	9 (17,3)	29 (55,8)	14 (26,9)						
CIP	4	11 (21,2)	20 (38,5)	20 (38,5)	23	27	2	23	28	1
	6	6 (11,5)	22 (42,3)	24 (46,2)	(44,2)	(51,9)	(3,9)	(44,2)	(53,9)	(1,9)
	8	5 (9,6)	23 (44,2)	24						
CN	4	7 (13,5)	43 (82,7)	2	47	5	-	45	7	-
	6	3 (5,8)	47 (90,4)	2 (3,9)	(88,7)	(9,6)		(86,5)	(13,5)	
	8	1 (1,9)	49 (94,2)	2						
CTX	4	6 (11,5)	21 (40,4)	24 (46,2)	27	25	-	VY	VY	VY
	6	-	29 (55,8)	23 (44,2)	(51,9)	(48,1)				
	8	2 (3,9)	26 (50,0)	24 (46,2)						
CZA	4	-	51	1	51	1	-	VY	VY	VY
	6	-	51 (98,1)	1 (1,9)	(98,1)	(1,9)				
	8	-	51	1						
IPM	4	2 (3,9)	49	1 (1,9)	49	3	-	49	3	-
	6	1 (1,9)	49 (94,2)	2 (1,9)	(94,2)	(5,8)		(94,2)	(5,8)	
	8	1	49	2						
LEV	4	7 (13,5)	21 (40,4)	23 (44,2)	24	26	2	24	28	-
	6	7	23 (44,2)	22 (42,3)	(46,1)	(50,0)	(3,9)	(46,2)	(53,9)	
	8	4 (7,7)	26 (50,0)	22						
MEM	4	-	49	3	49	3	-	49	3	-
	6	-	49 (94,2)	3 (5,8)	(94,2)	(5,8)		(94,2)	(5,8)	
	8	-	49	3						
SXT	4	1	36 (69,2)	15 (28,9)	32	20	-	35	17	-
	6	1 (1,9)	35 (67,3)	16 (30,8)	(61,5)	(38,5)		(67,3)	(32,7)	
	8	1	35	16						
TOB	4	8 (15,4)	42 (80,8)	2	47	5	-	VY	VY	VY
	6	6 (11,5)	44 (84,6)	2 (3,8)	(90,4)	(9,6)				
	8	5 (9,6)	45 (86,5)	2						
TPZ	4	23 (44,2)	17 (32,7)	9 (17,3)	47	5	-	44	8	-
	6	10 (19,2)	37 (71,2)	5 (9,6)	(90,4)	(9,6)		(84,6)	(15,4)	
	8	1 (1,9)	46 (88,5)	5						

A: Antibiyotikler, İ.S: İnkübasyon süreleri, OD: Orta duyarlı, VY: Otomatize sistemde ilgili antibiyotik için veri olmaması

***E.coli* İzolatlarının HADT ve Standart Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması**

Toplam 52 *E.coli* izolatının HADT’inde her izolatın 14 antibiyotiğe duyarlılık durumu test edildi. Testin inkübasyonlarının 4. 6. ve 8. saatlerinde izolatlara ait okunabilen inhibisyon zon sayıları sırasıyla, 719 (%98,7), 728 (%100) ve 728 (%100) olarak bulundu. ATU olarak değerlendirilen sonuçlar 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla, 109 (%15,1), 66 (%9,0) ve 48 (%6,5) olarak bulundu (Tablo 4.5).

E.coli izolatlarının HADT sonuçlarında duyarlı veya dirençli olarak değerlendirilemeyen zon çaplarının (ATU) en fazla hangi antibiyotiklere ait olduğuna bakıldığında, 4. saatte piperasilin/tazobaktamda, 6. ve 8. saatlerde en fazla amoksisilin/klavulanik asitte, tüm sonuçlar içinde ise, en fazla ATU sonucunun amoksisilin/klavulanik asitte olduğu görüldü. Testin 4. saatinde okunamayan diskler; seftazidim (3 izolat), sefotaksim (1 izolat), siprofloksasin (1 izolat), levofloksasin (1 izolat) ve piperasilin tazobaktam (3 izolat) olarak tespit edildi. Testin 6. ve 8. saatlerinde tüm antibiyotik diskleri değerlendirilebildi (Tablo 4.5).

HADT’nın ÇBH sayıları 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla 33 (%15,9), 29 (%14,0) ve 30 (%14,5), BH sayıları 6 (%1,2), 0 (%0,0) ve 1 (%0,2), KH sayıları 2 (%0,3), 2 (%0,3) ve 3 (%0,4) olarak hesaplandı. İnkübasyon sürelerine göre bakıldığında en fazla ÇBH ve BH oranlarının 4. saatte olduğu, KH oranının en yüksek 8. saatte olduğu görüldü. HADT yönteminin standart disk difüzyona göre kategorik uyumu, 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %93,3 %95,3 ve %95,0 olarak hesaplandı (Tablo 4.5).

E.coli izolatlarının içinde 4. saatte ÇBH’ların en sık nedeni 4. saate ampisilinde (10 izolat), 6. saatte ampisilin (8 izolat) ve amoksisilin/klavulanik asitte (8 izolat), 8. saatte amoksisilin/klavulanik asitte (11 izolat) bulundu. *E.coli*’ye ait inkübasyon saatlerine göre antibiyotiklerdeki hata sayıları Tablo 4.5’ te gösterildi.

E.coli izolatlarında test edilen antibiyotikler FDA kriterleriyle karşılaştırıldığında; amikasin, seftazidim avibaktam, imipenem ve meropenemin her üç inkübasyon saatinde de uygun olduğu, siprofloksasin ve piperasilin tazobaktamın 6. saatten itibaren uygun olduğu görüldü.

Tablo 4.5. *E.coli* HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması

	HADT								Disk difüzyon testi		
Antibiyotikler	İ.S.	Test sayısı	Oku. zon	ATU s	KU %	ÇBH s (%)	BH s (%)	KH s (%)	S s	R s	I s
AK	4	52	52	9	100	-	-	-	51	1	-
	6	52	52	1	100	-	-	-			
	8	52	52	1	100	-	-	-			
AM	4	52	52	4	79,2	10(29,4)	-	-	18	34	-
	6	52	52	5	83	8 (23,5)	-	-			
	8	52	52	5	83	8 (23,5)	-	-			
AMC	4	52	52	14	71,1	9 (31,0)	2(8,7)	-	23	29	-
	6	52	52	19	75,8	8 (27,6)	-	-			
	8	52	52	13	71,8	11 (38,0)	-	-			
CAZ	4	52	49	17	90,6	3 (13,0)	-	-	28	23	1
	6	52	52	7	91,1	4 (17,4)	-	-			
	8	52	52	9	95,3	2 (8,7)	-	-			
CIP	4	52	51	11	97,5	1 (3,7)	-	-	23	27	2
	6	52	52	6	95,7	-	-	2(3,8)			
	8	52	52	5	95,7	-	-	2(3,8)			
CN	4	52	52	7	95,6	2 (40)	-	-	47	5	-
	6	52	52	3	95,9	2 (40)	-	-			
	8	52	52	1	96,1	2 (40)	-	-			
CTX	4	52	51	6	93,3	2 (8)	1(3,7)	-	27	25	-
	6	52	52	-	96,2	2 (8)	-	-			
	8	52	52	2	96	1 (4)	1(3,7)	-			
CZA	4	52	52	-	100	-	-	-	51	1	-
	6	52	52	-	100	-	-	-			
	8	52	52	-	100	-	-	-			
IPM	4	52	52	2	100	-	-	-	49	3	-
	6	52	52	1	100	-	-	-			
	8	52	52	1	100	-	-	-			
LEV	4	52	51	7	93,2	1 (3,8)	-	2(3,8)	24	26	2
	6	52	52	7	100	-	-	-			
	8	52	52	4	95,8	1 (3,8)	-	1(1,9)			
MEM	4	52	52	-	100	-	-	-	49	3	-
	6	52	52	-	100	-	-	-			
	8	52	52	-	100	-	-	-			
SXT	4	52	52	1	92,2	4 (20)	-	-	32	20	-
	6	52	52	1	92,2	4 (20)	-	-			
	8	52	52	1	92,2	4 (20)	-	-			
TOB	4	52	52	8	97,7	1 (20)	-	-	47	5	-
	6	52	52	6	97,8	1 (20)	-	-			
	8	52	52	5	97,9	1 (20)	-	-			
TPZ	4	52	49	23	88,5	-	3(6,4)	-	47	5	-
	6	52	52	10	100	-	-	-			
	8	52	52	1	100	-	-	-			
Toplam	4	728	719	109	93,3	33(15,9)	6(1,2)	2(0,3)	516	207	5
	6	728	728	66	95,3	29(14,0)	-	2(0,3)			
	8	728	728	48	95	30(14,5)	1(0,2)	3(0,4)			

İ.S.=İnkübasyon süresi, Oku. zon= okunabilen inhibisyon zon sayısı, S=Duyarlı, R=Dirençli, I=Orta duyarlı

***K.pneumoniae* İzolatlarının HADT, Standart Disk Difüzyon ve Otomatize Sistemle Elde Edilen Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları**

Steril sıvı kültürlerinden izole edilen 31 *K.pneumoniae* izolatının HADT, disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistemle yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 4.6'da verildi.

HADT 8. saatindeki direnç oranları; siprofloksasine %93,5, seftazidime %87, sefotaksime %80,6, amoksisilin klavulanik asite %71, levofloksasine %71, meropeneme %67,7, piperasilin tazobaktama %67,7, imipeneme %38,7, tobramisine %38,7, gentamisine %35,5, trimetoprim sülfametoksazole %35,4, amikase %25,8'di. Seftazidim avibaktama dirençli izolat bulunmadı.

Disk difüzyon ile bulunan direnç oranları; siprofloksasine %93,5, amoksisilin klavulanik asite, levofloksasine, sefotaksime, seftazidime %87,1 piperasilin tazobaktama %67,8, meropeneme %58,1, imipeneme %54,8, tobramisine %45,1, trimetoprim sülfametoksazole %45,1, gentamisine %38,7, amikase %22,6 ve seftazidim avibaktama %3,2'ydı.

Otomatize sistemle direnç oranları; levofloksasine %93,5, siprofloksasine %93,5, amoksisilin klavulanik asite %90,3, seftazidime %90,3, imipeneme %64,5, meropeneme %64,5, piperasilin tazobaktama %61,3, trimetoprim sülfametoksazole %45,2, gentamisine %32,3 ve amikase %22,6'ydı.

Tablo 4.6. *K.pneumoniae* izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	HADT				Disk Difüzyon			Otomatize sistem		
	İ.S.	ATU S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	OD. S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	OD S %
AK	4	2 (6,5)	21 (67,7)	8	24	7	-	24	7	-
	6	1 (3,2)	22 (71,0)	8 (25,8)	(77,4)	(22,6)		(77,4)	(22,6)	
	8	1	22	8						
AMC	4	6(19,4)	4 (12,9)	21 (67,7)	4	27	-	3	28	-
	6	3 (9,7)	5 (16,1)	23 (74,2)	(12,9)	(87,1)		(9,9)	(90,3)	
	8	3	6 (19,4)	22 (71,0)						
CAZ	4	-	4	27	4	27	-	3	28	-
	6	-	4 (12,9)	27 (87,1)	(12,9)	(87,1)		(9,7)	(90,3)	
	8	-	4	27						
CIP	4	-	2	28 (90,3)	2	29	-	2	29	-
	6	-	2 (6,6)	29 (93,6)	(6,5)	(93,6)		(6,5)	(93,6)	
	8	-	2	29						
CN	4	1	19	11	19	12	-	21	10	-
	6	1 (3,2)	19 (61,3)	11 (35,5)	(61,3)	(38,7)		(67,7)	(32,3)	
	8	1	19	11						
CTX	4	1 (3,2)	5 (16,1)	25 (80,7)	4	27	-	VY	VY	VY
	6	1	4 (12,9)	26 (83,9)	(12,9)	(87,1)				
	8	2 (6,5)	4	25 (80,7)						
CZA	4	1 (3,2)	29 (93,6)	-	30	1	-	VY	VY	VY
	6	4 (12,9)	26 (83,9)	-	(96,8)	(3,2)				
	8	5 (16,1)	26	-						
IPM	4	12 (38,7)	11	8 (25,8)	12	7	2	11	20	-
	6	8(25,8)	11 (35,5)	12 (38,7)	(38,7)	(22,6)	(6,5)	(35,5)	(64,5)	
	8	8	11	12						
LEV	4	8 (25,8)	2	21 (67,7)	2	27	2	2	29	-
	6	7 (22,6)	2 (6,5)	22 (71,0)	(6,5)	(87,1)	(6,5)	(6,5)	(93,6)	
	8	7	2	22						
MEM	4	4 (12,9)	10	17 (54,8)	11	18	2	11	20	-
	6	-	10 (32,3)	21 (67,7)	(35,5)	(58,1)	(6,5)	(35,5)	(64,5)	
	8	-	10	2 (6,5)						
SXT	4	-	20	11	17	14	-	17	14	-
	6	-	20 (64,5)	11 (35,5)	(54,8)	(45,2)		(54,8)	(45,2)	
	8	-	20	11						
TOB	4	2	16 (51,6)	12	17	14	-	VY	VY	VY
	6	2 (6,5)	17 (54,8)	12 (38,7)	(54,8)	(45,2)				
	8	2	17	12						
TPZ	4	1 (3,2)	8 (25,8)	19 (61,3)	10	21	-	12	19	-
	6	1	9 (29,0)	21 (67,7)	(32,3)	(67,7)		(38,7)	(61,3)	
	8	-	10 (32,3)	21						

A: Antibiyotikler, İ.S: İnkübasyon süreleri, OD: Orta duyarlı, VY: Otomatize sistemde ilgili antibiyotik için veri olmaması

***K.pneumoniae* İzolatlarının HADT ve Standart Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması**

Toplam 31 *K.pneumoniae* izolatının HADT’inde izolatların 13 antibiyotiğe karşı duyarlılık durumları test edildi. Testin inkübasyonlarının 4. 6. ve 8. saatlerinde izolatlara ait okunabilen inhibisyon zon sayıları sırasıyla, 397 (%98,5), 402 (%99,7) ve 403 (%100) olarak bulundu. ATU olarak değerlendirilen sonuçlar 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla, 38 (%9,6), 28 (%7,0) ve 29 (%7,2) olarak bulundu (Tablo 4.7).

K.pneumoniae izolatlarının HADT sonuçlarında duyarlı veya dirençli olarak değerlendirilemeyen zon çaplarının (ATU), 4., 6. ve 8. saatlerde en fazla imipenem disklerinde olduğu bulundu. Testin 4. saatinde okunamayan antibiyotikler; seftazidim/avibaktam (1 izolat), siprofloksasin (1 izolat), tobramisin (1 izolat) ve piperasilin tazobaktam (3 izolat) olarak tespit edildi. Testin 6. ve 8. saatlerinde tüm antibiyotik diskleri değerlendirilebildi (Tablo 4.7).

HADT’in ÇBH sayıları 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla 7, 5 ve 6, BH sayıları 7, 6 ve 6, KH sayıları 4, 6 ve 6 olarak hesaplandı. İnkübasyon sürelerine göre bakıldığında en fazla ÇBH ve BH oranlarının 4. saatte, en fazla KH oranlarının 6. ve 8. saatlerde olduğu bulundu. Hata oranları izolat sayısı yeterli olmadığından hesaplanmadı ve testin FDA kriterlerine uygunluğu değerlendirilemedi. HADT yönteminin standart disk difüzyona göre kategorik uyumu, 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %95,0 %95,4 ve %95,2 olarak hesaplandı (Tablo 4.7).

K.pneumoniae izolatlarının için test sonuçlarında en yüksek ÇBH, BH ve KH değerleri tüm inkübasyon saatlerinde trimetoprim/sulfametoksazolde bulundu. *K.pneumoniae* izolatlarına ait HADT’inde inkübasyon saatlerine göre antibiyotiklerdeki hata sayıları Tablo 4.7’de gösterildi.

K.pneumoniae izolatlarının HADT’inin her üç inkübasyon saatinde seftazidim, siprofloksasin, gentamisin, levofloksasin ve tobramisin sonuçlarının disk difüzyon testi sonuçlarıyla kategorik uyumları %100 olarak bulundu. Kategorik uyumu en düşük antibiyotiğin ise tüm inkübasyon saatlerinde trimetoprim sülfametoksazol olduğu tespit edildi.

Tablo 4.7. *K.pneumoniae* izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması

	HADT								Disk difüzyon testi		
Antibiyotikler	İ.S.	Test sayısı	Oku. zon	ATU s	KU %	ÇBH s	BH s	KH s	S s	R s	I s
AK	4	31	31	2	96,6	-	1	-	24	7	-
	6	31	31	1	96,7	-	1	-			
	8	31	31	1	96,7	-	1	-			
AMC	4	31	31	6	96	1	-	-	4	27	-
	6	31	31	3	96,4	1	-	-			
	8	31	31	3	92,9	2	-	-			
CAZ	4	31	31	-	100	-	-	-	4	27	-
	6	31	31	-	100	-	-	-			
	8	31	31	-	100	-	-	-			
CIP	4	31	30	-	100	-	-	-	2	29	-
	6	31	31	-	100	-	-	-			
	8	31	31	-	100	-	-	-			
CN	4	31	31	1	100	-	-	-	19	12	-
	6	31	31	1	100	-	-	-			
	8	31	31	1	100	-	-	-			
CTX	4	31	31	1	96,7	1	-	-	4	27	-
	6	31	31	1	100	-	-	-			
	8	31	31	2	100	-	-	-			
CZA	4	31	30	1	96,6	1	-	-	30	1	-
	6	31	30	4	100	-	-	-			
	8	31	31	5	100	-	-	-			
IPM	4	31	31	12	84,2	1	1	1	12	17	2
	6	31	31	8	87	1	1	1			
	8	31	31	8	87	1	1	1			
LEV	4	31	31	8	100	-	-	-	2	27	2
	6	31	31	7	100	-	-	-			
	8	31	31	7	100	-	-	-			
MEM	4	31	31	4	96,3	-	1	-	11	18	2
	6	31	31	-	90,3	-	1	2			
	8	31	31	-	90,3	-	1	2			
SXT	4	31	31	-	71	3	3	3	17	14	-
	6	31	31	-	71	3	3	3			
	8	31	31	-	71	3	3	3			
TOB	4	31	30	2	100	-	-	-	17	14	-
	6	31	31	2	100	-	-	-			
	8	31	31	2	100	-	-	-			
TPZ	4	31	28	1	96,3	-	1	-	10	21	-
	6	31	31	1	100	-	-	-			
	8	31	31	1	100	-	-	-			
Toplam	4	403	397	38	95	7	7	4	156	241	6
	6	403	402	28	95,4	5	6	6			
	8	403	403	29	95,2	6	6	6			

İ.S.=İnkübasyon süresi, Oku. zon= okunabilen inhibisyon zon sayısı, S=Duyarlı, R=Dirençli, I=Orta duyarlı

***E.coli* ve *K.pneumoniae* İzolatlarının HADT ve Standart Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması**

Çalışmada steril sıvılardan izole edilen etkenler içinde *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının en fazla sayıda olmaları nedeniyle bu izolatların toplam HADT sonuçları disk difüzyon sonuçlarıyla karşılaştırıldı ve ÇBH, BH, KH oranları hesaplandı. HADT’inde 4. 6. ve 8. saatlerinde izolatlara ait okunabilen inhibisyon zon sayıları toplam 1116 (%98,7), 1130 (%99,9) ve 1131’di (%100). ATU değerleri ise, 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla, 147 (%13,2), 94 (%8,3) ve 77 (%6,8) olarak bulundu (Tablo 4.8).

E.coli ve *K.pneumoniae* izolatlarının HADT toplam sonuçlarında duyarlı veya dirençli olarak değerlendirilemeyen zon çaplarının (ATU) en fazla hangi antibiyotiklere ait olduğuna bakıldığında, 4. saatte piperasilin tazobaktamda, 6. ve 8. saatlerde amoksisilin klavulanik asitte olduğu bulundu (Tablo 4.8).

HADT’inin ÇBH sayıları 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla, 40 (%8,9), 34 (%7,6) ve 36 (%8,0), BH sayıları 13 (%1,9), 6 (%0,9) ve 7 (%1,0), KH sayıları 6 (%0,5), 8 (%0,7) ve 9 (%0,8) olarak hesaplandı. İnkübasyon sürelerine göre en yüksek ÇBH ve BH oranlarının 4. saatte, en yüksek KH oranının 8. Saatte olduğu görüldü. HADT yönteminin standart disk difüzyona göre kategorik uyumu, 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %93,9, %95,4 ve %95,1 olarak hesaplandı (Tablo 4.8).

Tüm antibiyotikler içinde her üç inkübasyon saatinde amikasin ve meropeneme ait ÇBH oranları her iki antibiyotik için de %0, BH oranı sırasıyla %1,3 ve %1,7 ve KH oranı sırasıyla %0 ve %2,4 (4. Saatte %0, 6 ve 8. Saatlerde %2,4) bulundu. İnkübasyonun 6. saatinden itibaren siprofloksasin, seftazidim avibaktam ve piperasilin tazobaktama ait ÇBH ve BH oranı her üçünde de %0, KH oranı sırasıyla %2,4, %0 ve %0 bulunarak bu antibiyotiklerin FDA kriterlerine göre uygulanabilir olduğu tespit edildi. FDA kriterlerine uymayan sonuçların; ampisilin, amoksisilin klavulanik asit, seftazidim, gentamisin, sefotaksim, imipenem, levofloksasin, trimetoprim sulfametoksazol ve tobramisine ait olduğu görüldü.

Tablo 4.8. *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması

A	HADT								Disk difüzyon testi		
	İ.S.	Test sayısı	Oku. zon	ATU	KU %	ÇBH s(%)	BH s (%)	KH s (%)	S s	R s	I s
AK	4	83	83	11	98,7	- (0)	1 (1,3)	- (0)	75	8	-
	6	83	83	2	98,6	- (0)	1 (1,3)	- (0)			
	8	83	83	2	98,6	- (0)	1 (1,3)	- (0)			
AM	4	52	52	4	79,2	10 (29,4)	- (0)	- (0)	18	34	-
	6	52	52	5	83	8 (23,5)	- (0)	- (0)			
	8	52	52	5	83	8 (23,5)	- (0)	- (0)			
AMC	4	83	83	20	81	10 (17,9)	2 (7,4)	- (0)	27	56	-
	6	83	83	22	85,2	9 (16,1)	- (0)	- (0)			
	8	83	83	16	80,6	13 (23,2)	- (0)	- (0)			
CAZ	4	83	80	17	95,5	3 (6,0)	- (0)	- (0)	32	50	1
	6	83	83	7	93,9	4 (8,0)	- (0)	- (0)			
	8	83	83	9	97,3	2 (4,0)	- (0)	- (0)			
CIP	4	83	81	11	98,6	1 (1,8)	- (0)	- (0)	25	56	2
	6	83	83	6	97,4	- (0)	- (0)	2 (2,4)			
	8	83	83	5	97,4	- (0)	- (0)	2 (2,4)			
CN	4	83	83	8	97,3	2 (11,8)	- (0)	- (0)	66	17	-
	6	83	83	4	97,5	2 (11,8)	- (0)	- (0)			
	8	83	83	2	97,5	2 (11,8)	- (0)	- (0)			
CTX	4	83	82	7	94,7	3 (5,8)	1 (3,2)	- (0)	31	52	-
	6	83	83	1	97,6	2 (3,8)	- (0)	- (0)			
	8	83	83	4	97,5	1 (1,9)	1 (3,2)	- (0)			
CZA	4	83	82	1	98,8	1 (50,0)	- (0)	- (0)	81	2	-
	6	83	82	4	100	- (0)	- (0)	- (0)			
	8	83	83	5	100	- (0)	- (0)	- (0)			
IPM	4	83	83	14	95,7	1 (5,0)	1 (1,6)	1 (1,2)	61	20	2
	6	83	83	9	95,9	1 (5,0)	1 (1,6)	1 (1,2)			
	8	83	83	9	95,9	1 (5,0)	1 (1,6)	1 (1,2)			
LEV	4	83	82	15	95,5	1 (1,9)	- (0)	2 (2,4)	26	53	4
	6	83	83	14	100	- (0)	- (0)	- (0)			
	8	83	83	11	97,2	1 (1,9)	- (0)	1 (1,2)			
MEM	4	83	83	4	98,7	- (0)	1 (1,7)	- (0)	60	21	2
	6	83	83	-	96,4	- (0)	1 (1,7)	2 (2,4)			
	8	83	83	-	96,4	- (0)	1 (1,7)	2 (2,4)			
SXT	4	83	83	1	84,1	7 (20,6)	3 (6,1)	3 (3,6)	49	34	-
	6	83	83	1	84,1	7 (20,6)	3 (6,1)	3 (3,6)			
	8	83	83	1	84,1	7 (20,6)	3 (6,1)	3 (3,6)			
TOB	4	83	82	10	98,6	1 (5,3)	- (0)	- (0)	64	19	-
	6	83	83	8	98,7	1 (5,3)	- (0)	- (0)			
	8	83	83	7	98,7	1 (5,3)	- (0)	- (0)			
TPZ	4	83	77	24	92,5	- (0)	4 (7,0)	- (0)	57	26	-
	6	83	83	11	100	- (0)	- (0)	- (0)			
	8	83	83	2	100	- (0)	- (0)	- (0)			
Toplam	4	1131	1116	147	93,9	40 (8,9)	13 (1,9)	6 (0,5)	672	448	11
	6	1131	1130	94	95,4	34 (7,6)	6 (0,9)	8 (0,7)			
	8	1131	1131	77	95,1	36 (8,0)	7 (1,0)	9 (0,8)			

A=Antibiyotikler, İ.S.=İnkübasyon süresi, Oku.zon= okunabilen inhibisyon zon sayısı, S=Duyarlı, R=Dirençli, I=Orta duyarlı

***Paeruginosa* İzolatlarının HADT, Standart Disk Difüzyon ve Otomatize Sistemle Elde Edilen Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları**

Kan kültürlerinden izole edilen 9 *Paeruginosa* izolatının HADT, disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistemle yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 4.9’da verildi.

HADT’inin 8. saatinde izolatların %33,3’ü seftazidime, %11,1’i piperasilin tazobaktama dirençli, izolatların tümü diğer antibiyotiklere duyarlı bulundu.

Disk difüzyon testinde izolatların %11,1’inin seftazidime dirençli, tümünün diğer antibiyotiklere duyarlı olduğu bulundu.

Otomatize sistemle saptanan direnç oranları; piperasilin tazobaktama %22,2, imipeneme %11,1, meropeneme %11,1, sefepime %11,1, seftazidime %11,1 bulunurken, izolatların tümü diğer antibiyotikler duyarlı bulundu.

Tablo 4.9. *Paeruginosa* izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	HADT				Disk Difüzyon			Otomatize Sistem		
	İ.S.	ATU	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı S %	Dirençli S %	OD. S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	OD S %
AK	6 8	- -	9 (100) 9	- -	9 (100)	- -	- -	9 100	- -	- -
CAZ	6 8	2(22,2) 1(11,1)	3 (33,3) 5 (55,6)	3 (33,33) 3 (33,33)	8 (88,88)	1 (11,1)	- -	8 (88,9)	1 (11,1)	- -
CIP	6 8	- -	9 9	- -	9 (100)	- -	- -	9 (100)	- -	- -
CZA	6 8	1(11,1)	8 9	- -	9 (100)	- -	- -	VY VY	VY VY	VY VY
FEP	6 8	2(22,2) 1(11,1)	6 (66,7) 8 (88,9)	1 (11,11) -	9 (100)	- -	- -	8 (88,9)	1 (11,1)	1 (11,1)
IMP	6 8	- -	9 (100) 9	- -	9 (100)	- -	- -	8 (88,9)	1 (11,1)	- -
LEV	6 8	- -	9 (100) 9	- -	9 (100)	- -	- -	9 (100)	- -	- -
MEM	6 8	- -	9 (100) 9	- -	9 (100)	- -	- -	8 (88,9)	1 (11,1)	- -
TOB	6 8	- -	9 (100) 9	- -	9 (100)	- -	- -	VY VY	VY VY	VY VY
TPZ	6 8	3(33,3) -	5 (55,6) 8 (88,9)	1 (11,11) -	9 (100)	- -	- -	7 (77,8)	2 (22,2)	- -

A: Antibiyotikler, İ.S: İnkübasyon süreleri, OD: Orta duyarlı, VY: Otomatize sistemde ilgili antibiyotik için veri olmaması

***Paeruginosa* İzolatlarının HADT ve Standart Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması**

Toplam 9 *Paeruginosa* izolatının HADT'yle 10 antibiyotiğe karşı duyarlılık durumları test edildi. Testin inkübasyonunun 6. ve 8. saatlerinde izolatlara ait okunabilen inhibisyon zon sayıları sırasıyla, 89 (%98,8) ve 90 (%100) olarak bulundu. ATU olarak değerlendirilen sonuçlar 6. ve 8. saatlerde sırasıyla, 8 (%9,0) ve 3 (%3,3) olarak bulundu (Tablo 4.10).

Paeruginosa izolatlarının HADT sonuçlarında duyarlı veya dirençli olarak değerlendirilemeyen zon çaplarının (ATU) en fazla hangi antibiyotiklere ait olduğuna bakıldığında, 6. saatte piperasilin/tazobaktamda, 8. saatte sefepimde olduğu bulundu. Testin 6. saatinde okunamayan antibiyotik diski seftazidimdi (1 izolat). 8. saatte tüm antibiyotik diskleri değerlendirilebildi (Tablo 4.10).

HADT'inin ÇBH sayıları dirençli izolat sayısı az olduğu için hesaplanmadı. HADT yönteminin standart disk difüzyona göre kategorik uyumu, 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %92,6 ve %96,6 olarak hesaplandı (Tablo 4.10).

Paeruginosa izolatlarının içinde BH'ların en sık nedeni seftazidimde tespit edildi. *Paeruginosa*'ya ait inkübasyon saatlerine göre antibiyotiklerdeki BH ve KH sayıları Tablo 4.10'da gösterildi.

Paeruginosa izolatlarında test edilen antibiyotiklerden; amikasin, siprofloksasin, seftazidim avibaktam, imipenem, levofloksasin, meropenem ve tobramisin her üç inkübasyon saatinde de kategorik uyumu %100 bulundu. Kategorik uyumu en düşük antibiyotiğin ise tüm inkübasyon saatlerinde de seftazidim olduğu tespit edildi. Toplam izolat sayısı, dirençli ve duyarlı izolat sayıları az olduğu için testin hata oranları hesaplanamadı ve testin uygulanabilirliği değerlendirilemedi.

Tablo 4.10. *P.aeruginosa* izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması

	HADT							Disk difüzyon testi		
Antibiyotikler	İ.S.	Test sayısı	Oku. zon	ATUs	KU %	BHs	KHs	Ss	Rs	Is
AK	6 8	9 9	9 9	- -	100 100	- -	- -	9	-	-
CAZ	6 8	9 9	8 9	2 1	50 75	3 2	- -	8	1	-
CIP	6 8	9 9	9 9	- -	100 100	- -	- -	9	-	-
CZA	6 8	9 9	9 9	1 -	100 100	- -	- -	9	-	-
FEP	6 8	9 9	9 9	2 2	97,7 100	2 -	- -	9	-	-
IMP	6 8	9 9	9 9	- -	100 100	- -	- -	9	-	-
LEV	6 8	9 9	9 9	- -	100 100	- -	- -	9	-	-
MEM	6 8	9 9	9 9	- -	100 100	- -	- -	9	-	-
TOB	6 8	9 9	9 9	- -	100 100	- -	- -	9	-	-
TPZ	6 8	9 9	9 9	3 -	83,3 88,9	1 1	- -	9	-	-
Toplam	6 8	90 90	89 90	8 3	92,6 96,6	6 3	- -	89	1	-

İ.S.=İnkübasyon süresi, Oku.zon= okunabilen inhibisyon zon sayısı, S=Duyarlı, R=Dirençli, I=Orta duyarlı

***A.baumannii* İzolatlarının HADT, Standart Disk Difüzyon ve Otomatize Sistemle Elde Edilen Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları**

Kan kültürü örneklerinden izole edilen 4 *A.baumannii* izolatının HADT, disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistemle yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 4.11’de verildi. HADT’inin 8. saatinde, disk difüzyon testinde ve otomatize sistemle yapılan testlerde tüm antibiyotiklere izolatların dirençli (%100) olduğu bulundu.

Tablo 4.11. *A.baumannii* izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	HADT				Disk Difüzyon		Otomatize Sistem	
	İ.S.	ATU S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	Duyarlı s %	Dirençli s %
AK	4	-	-	1 (25.0)	-	4 (100)	-	4 (100)
	6	-	-	4 (100)				
	8	-	-	4				
CIP	4	-	-	1 (25.0)	-	4 (100)	-	4 (100)
	6	-	-	4 (100)				
	8	-	-	4				
CN	4	-	-	1 (25.0)	-	4 (100)	-	4 (100)
	6	-	-	4				
	8	-	-	4				
IPM	4	-	-	1 (25.0)	-	4 (100)	-	4 (100)
	6	-	-	4 (100)				
	8	-	-	4				
LEV	4	-	-	1 (25.0)	-	4 (100)	-	4 (100)
	6	-	-	4 (100)				
	8	-	-	4				
MEM	4	-	-	1 (25.0)	-	4 (100)	-	4 (100)
	6	-	-	4 (100)				
	8	-	-	4				
SXT	4	-	-	1 (25.0)	-	4 (100)	-	4 (100)
	6	-	-	4 (100)				
	8	-	-	4				
TOB	4	-	-	1 (25.0)	-	4 (100)	VY	VY
	6	-	-	4 (100)				
	8	-	-	4				

İ.S.=İnkübasyon süresi

***A.baumannii* İzolatlarının HADT ve Standart Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması**

HADT ile toplam 4 *A.baumannii* izolatının 8 antibiyotiğe karşı duyarlılık durumu test edildi. Testin inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde izolatlara ait okunabilen inhibisyon zon sayıları sırasıyla, 8 (%25,0), 32 (%100) ve 32 (%100) olarak bulundu. İnkübasyon saatleri boyunca ATU olarak değerlendirilen sonuç saptanmadı (Tablo 4.12). Okunabilen zon çapları üzerinden değerlendirilen sonuçların tamamı 6. saatten itibaren tüm antibiyotiklere dirençli olarak bulundu. Hata oranları, izolat sayısı ve duyarlı izolat sayısı az olduğu için hesaplanamadı ve testin uygulanabilirliği değerlendirilemedi. HADT yönteminin standart disk difüzyona göre kategorik uyumu, 4. 6. ve 8. saatlerin her antibiyotik için %100 olarak hesaplandı (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. *A.baumannii* izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması

	HADT						Disk difüzyon testi		
Antibiyotikler	İ.S.	Test sayısı	Oku. zon	ATUs	KU %	ÇBHs	Ss	Rs	Is
AK	4	4	1	-	100	-	-	4	-
	6	4	4	-	100	-	-	-	-
	8	4	4	-	100	-	-	-	-
CIP	4	4	1	-	100	-	-	4	-
	6	4	4	-	100	-	-	-	-
	8	4	4	-	100	-	-	-	-
CN	4	4	1	-	100	-	-	4	-
	6	4	4	-	100	-	-	-	-
	8	4	4	-	100	-	-	-	-
IPM	4	4	1	-	100	-	-	4	-
	6	4	4	-	100	-	-	-	-
	8	4	4	-	100	-	-	-	-
LEV	4	4	1	-	100	-	-	4	-
	6	4	4	-	100	-	-	-	-
	8	4	4	-	100	-	-	-	-
MEM	4	4	1	-	100	-	-	4	-
	6	4	4	-	100	-	-	-	-
	8	4	4	-	100	-	-	-	-
SXT	4	4	1	-	100	-	-	4	-
	6	4	4	-	100	-	-	-	-
	8	4	4	-	100	-	-	-	-
TOB	4	4	1	-	100	-	-	4	-
	6	4	4	-	100	-	-	-	-
	8	4	4	-	100	-	-	-	-
Toplam	4	32	8	-	100	-	-	32	-
	6	32	32	-	100	-	-	-	-
	8	32	32	-	100	-	-	-	-

İ.S.=İnkübasyon süresi, Oku.zon= okunabilen inhibisyon zon sayısı, S=Duyarlı, R=Dirençli, I=Orta duyarlı

***S.aureus* İzolatlarının HADT, Standart Disk Difüzyon ve Otomatize Sistemle Elde Edilen Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları**

Steril sıvı kültürlerinden izole edilen 45 *S.aureus* izolatının HADT, disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistemle yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 4.13'te verildi.

HADT'in 8. Saatinde izolatların %35,6'sı sefoksitine dirençli, tümü diğer antibiyotiklere duyarlı bulundu.

Disk difüzyon testi ile direnç oranları; sefoksitinde %37,8 ve norfloksasinde %2,2 bulunurken test edilen diğer antibiyotikler için direnç saptanmadı.

Otomatize sistemle direnç oranları ise; sefoksitinde %42,2 bulunurken, test edilen diğer antibiyotikler duyarlı bulundu.

Tablo 4.13. *S.aureus* izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	HADT				Disk Difüzyon		Otomatize sistem	
	İ.S.	ATU S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	Duyarlı S %	Dirençli S %
AK	4	-	44 (97,8)	-	45	-	45	-
	6	-	45(100)	-	(100)			
	8	-	45	-				
CN	4	1(2,2)	43 (95,6)	-	45		45	-
	6	-	45 (100)	-	(100)		(100)	
	8	-	45	-				
FOX	4	14(31,1)	28 (62,2)	2 (4,4)	28	17	26	19
	6	5 (11,1)	28	12 (26,7)	(62,2)	(37,8)	(57,8)	(42,2)
	8	2 (4,4)	27 (60,0)	16 (35,6)				
NOR	4	2 (4,4)	42 (93,3)	-	44	1	VY	VY
	6	1 (2,2)	44 (97,8)	-	(97,8)	(2,2)		
	8	1	44	-				
TOB	4	2 (2,2)	42 (93,3)	-	45	-	VY	VY
	6	-	45 (100)	-	(100)			
	8	-	45	-				

İ.S.=İnkübasyon süresi

***S.aureus* İzolatlarının HADT ve Standart Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması**

HADT'yle toplam 45 *S.aureus* izolatının 5 antibiyotiğe karşı duyarlılık durumu test edildi. Testin inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde izolatlara ait okunabilen inhibisyon zon sayıları sırasıyla, 220 (%97,7), 225 (%100) ve 225 (%100), ATU olarak değerlendirilen sonuçlar 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla 19 (%8,6), 6 (%2,6) ve 3 (%1,3) olarak bulundu (Tablo 4.14).

S.aureus izolatlarının HADT sonuçlarında duyarlı veya dirençli olarak değerlendirilemeyen zon çaplarının (ATU) en fazla hangi antibiyotiklere ait olduğuna bakıldığında, en fazla ATU oranın sefoksitine ait olduğu bulundu. 4. saatte 1 izolatın tüm antibiyotik disklerinin zon çapları okunamadı. Testin 6. ve 8. saatlerinde tüm antibiyotik diskleri değerlendirilebildi (Tablo 4.14).

HADT yönteminin standart disk difüzyona göre kategorik uyumu, 4. 6. ve 8. saatlerin her birinde %100 olduğu görüldü. HADT'inin ÇBH sayısı ve hata oranları

antibiyotiklere yeterli sayıda dirençli izolat üretilmediği için hesaplanamadı ve testin uygulanabilirliği değerlendirilemedi (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. *S.aureus* izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması

Antibiyotikler	HADT								Disk difüzyon testi		
	İ.S.	Test sayısı	Oku. zon	ATU	KU %	ÇBH s	BH s	KH s	S s	R s	I s
AK	4	45	44	-	100	VY	-	-	45	-	-
	6	45	45	-	100	VY	-	-			
	8	45	45	-	100	VY	-	-			
CN	4	45	44	1	100	VY	-	-	45	-	-
	6	45	45	-	100	VY	-	-			
	8	45	45	-	100	VY	-	-			
FOX	4	45	44	14	100	-	-	-	28	17	-
	6	45	45	5	100	-	-	-			
	8	45	45	2	100	-	-	-			
NOR	4	45	44	2	100	-	-	-	44	1	-
	6	45	45	1	100	-	-	-			
	8	45	45	1	100	-	-	-			
TOB	4	45	44	2	100	VY	-	-	45	-	-
	6	45	45	-	100	VY	-	-			
	8	45	45	-	100	VY	-	-			
Toplam	4	225	220	19	100	-	-	-	207	18	-
	6	225	225	6	100	-	-	-			
	8	255	225	3	100	-	-	-			

İ.S.=İnkübasyon süresi, Oku.zon= okunabilen inhibisyon zon sayısı, VY= İlgili antibiyotikle ilgili dirençli izolat olmadığından ÇBH ile ilgili veri olmaması, S=Duyarlı, R=Dirençli, I=Orta duyarlı



Şekil 4.2. *S.aureus* 'a ait sırasıyla 4. 6. ve 8. inkübasyon saatlerindeki plak görüntüsü

***E.faecalis* İzolatlarının HADT, Standart Disk Difüzyon ve Otomatize Sistemle Elde Edilen Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları**

Steril sıvı kültürlerinden izole edilen 8 *E.faecalis* izolatının HADT, disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistemle yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 4.15'te verildi. HADT'inin 8. saatinde, disk difüzyon testinde ve otomatize sistem sonuçlarında test edilen antibiyotiklerin hiçbirine dirençli olan izolat bulunmadı.

Tablo 4.15. *E.faecalis* izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	HADT				Disk Difüzyon		Otomatize sistem	
	İ.S.	ATU S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	Duyarlı S %	Dirençli S %
AM	4	-	8	-	8	-	8	-
	6	-	8 (100)	-	(100)	-		
	8	-	8	-				
IPM	4	-	8	-	8	-	VY	VY
	6	-	8 (100)	-	(100)	-		
	8	-	8	-				
LNZ	4	-	-	-	8	-	8	-
	6	-	8 (100)	-	(100)	-	(100)	-
	8	-	8	-				
VA	4	8			8	-	8	-
	6	8(100)			(100)	-	(100)	-
	8	8						

İ.S.=İnkübasyon süresi

***E.faecalis* İzolatlarının HADT ve Standart Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması**

HADT ile toplam 8 *E.faecalis* izolatının 4 antibiyotiğe duyarlılık durumu test edildi. Testin inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde izolatlara ait okunabilen inhibisyon zon sayıları sırasıyla, 31 (%96,8), 32 (%100) ve 32 (%100) olarak bulundu. ATU olarak değerlendirilen sonuçlar 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla 8 (%25,8), 8 (%25,0) ve 8 (%25,0) olarak bulundu. İnkübasyon saatleri boyunca dirençli sonuç bulunmadı (Tablo 4.16).

E.faecalis izolatlarının vankomisine ait zon çaplarının, her üç inkübasyon sürelerinde ATU kategorisinde olduğu görüldü. 4. saatte bir izolata ait linezolid diskinde inhibisyon zonu oluşmadı. İnkübasyonun 6. ve 8. saatlerinde tüm antibiyotik diskleri değerlendirilebildi (Tablo 4.16).

HADT'inin hata oranları antibiyotiklere yeterli sayıda dirençli izolat üretilmediği için hesaplanamadı ve testin uygulanabilirliği değerlendirilemedi. Standart disk difüzyona göre kategorik uyumu, 4. 6. ve 8. saatlerin her birinde %100'dü (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. *E.faecalis* izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması

Antibiyotikler	HADT							Disk difüzyon testi		
	İ.S.	Test sayısı	Oku. zon	ATUs	KU %	BHs	KHs	Ss	Rs	Is
AM	4	8	8	-	100	-	-	8	-	-
	6	8	8	-	100	-	-			
	8	8	8	-	100	-	-			
IPM	4	8	8	-	100	-	-	8	-	-
	6	8	8	-	100	-	-			
	8	8	8	-	100	-	-			
LNZ	4	8	7	-	100	-	-	8	-	-
	6	8	8	-	100	-	-			
	8	8	8	-	100	-	-			
VA	4	8	8	8	-	-	-	8	-	-
	6	8	8	8	-	-	-			
	8	8	8	8	-	-	-			
Toplam	4	32	31	8	100	-	-	32	-	-
	6	32	32	8	100	-	-			
	8	32	32	8	100	-	-			

İ.S.=İnkübasyon süresi, Oku.zon= okunabilen inhibisyon zon sayısı, S=Duyarlı, R=Dirençli, I=Orta duyarlı

***E.faecium* İzolatlarının HADT, Standart Disk Difüzyon ve Otomatize Sistemle Elde Edilen Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları**

Kan kültürlerinden izole edilen 4 *E.faecium* izolatının HADT, disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistemle yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 4.17'de verildi.

HADT 8. saatinde izolatların tümü (%100) ampisilin ve imipeneme dirençli, diğer tüm antibiyotiklere duyarlı bulundu.

Disk difüzyon ile direnç oranları; ampisilin ve imipenemde %75 bulunurken test edilen diğer antibiyotikler duyarlı bulundu.

Otomatize sistemle direnç oranları; ampisilinde %75 bulunurken test edilen diğer antibiyotikler duyarlı bulundu.

Tablo 4.17. *E.faecium* izolatları için HADT, standart disk difüzyon ve otomatize sistemden elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	HADT				Disk Difüzyon			Otomatize sistem		
	İ.S.	ATU S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	OD. S %	Duyarlı S %	Dirençli S %	OD S %
AM	4	-	-	3 (75,0)	1	3	-	1	3	-
	6	-	-	4 (100)	(25,0)	(75,0)	-	(25,0)	(75,0)	-
	8	-	-	4						
IPM	4	-	-	3 (75,0)	-	3	1	VY	VY	VY
	6	-	-	4 (100)		(75,0)	(25,0)			
	8	-	-	4						
LNZ	4	-	1 (25,0)	-	4	-	-	4	-	-
	6	1 (25,0)	3 (75,0)	-	(100)			(100)		
	8	-	4 (100)	-						
VA	4	3 (100)	-	-	4	-	-	4	-	-
	6	4 (100)	-	-	(100)			(100)		
	8	4 (100)	-	-						

İ.S.=İnkübasyon süresi

***E.faecium* İzolatlarının HADT ve Standart Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması**

HADT’inde toplam 4 *E.faecium* izolatının 4 antibiyotiğe karşı duyarlılık durumu test edildi. Testin inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde izolatlara ait okunabilen inhibisyon zon sayıları sırasıyla, 10 (%62,5), 16 (%100) ve 16 (%100) olarak bulundu. ATU olarak değerlendirilen sonuçlar vankomisine aitti (Tablo 4.18.). Testin 4. saatinde okunamayan sonuçlar; ampicilin (1 izolat), imipenem (1 izolat), linezolid (3 izolat) ve vankomisine (1 izolat) aitti, 6. ve 8. saatlerde tüm antibiyotik diskleri değerlendirilebildi (Tablo 4.18) .

HADT yönteminin standart disk difüzyona göre kategorik uyumu, 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %100, %81,8 ve %83,3 olarak hesaplandı. (Tablo 4.18.) HADT’inin hata oranları izolat sayısı az olduğu için hesaplanamadı ve testin uygulanabilirliği değerlendirilemedi.

Tablo 4.18. *E.faecium* izolatlarının HADT yöntemi sonuçları ve sonuçların standart disk difüzyon yöntemine göre karşılaştırılması

Antibiyotikler	HADT								Disk difüzyon testi		
	İ.S.	Test sayısı	Oku. zon	ATU s	KU %	ÇBH s	BH s	KH s	S s	R s	I s
AM	4	4	3	-	100	-	-	-	1	3	-
	6	4	4	-	75	-	1	-			
	8	4	4	-	75	-	1	-			
IPM	4	4	3	-	100	-	-	-	-	3	1
	6	4	4	-	75	-	-	1			
	8	4	4	-	75	-	-	1			
LNZ	4	4	1	-	100	-	-	-	4	-	-
	6	4	4	-	100	-	-	-			
	8	4	4	-	100	-	-	-			
VA	4	4	3	3	-	-	-	-	4	-	-
	6	4	4	4	-	-	-	-			
	8	4	4	4	-	-	-	-			
Toplam	4	16	10	3	100	-	-	-	9	6	1
	6	16	16	4	83,3	-	1	1			
	8	16	16	4	83,3	-	1	1			

İ.S.=İnkübasyon süresi, Oku.zon= okunabilen inhibisyon zon sayısı, S=Duyarlı, R=Dirençli, I=Orta duyarlı

E.faecium izolatları için; 4., 6. ve 8. saatlerdeki kategorik uyumu sırasıyla ampisilin için %100, %75 ve %75, imipenem için %100, %75 ve %75 bulundu. Linezolidin kategorik uyumu her üç inkübasyon saatinde de %100 bulundu.

HADT Yöntemiyle GSBL Taraması Sonuçlarının Referans Yöntemle Karşılaştırılması

Kombine disk difüzyon testiyle 52 *E.coli* izolatının 20'sinin GSBL ürettiği doğrulandı. HADT yöntemiyle bu izolatların 18'inde GSBL pozitif bulundu. Tüm HADT GSBL sonuçları değerlendirildiğinde, 4. saatte 4 izolat, 6. saatte 1 izolat, 8. saatte 2 izolatta yanlış pozitif sonuç bulunurken; 4. saatte 1 izolat ve 6. saatte 1 izolatta yanlış negatif sonuç bulundu.

Kombine disk difüzyon testiyle 31 *K.pneumoniae* izolatının 27'si GSBL pozitif olarak bulundu. HADT yöntemiyle de aynı suşlarda GSBL varlığı saptandı. HADT ile *K.pneumoniae* izolatlarında yanlış pozitif veya yanlış negatif GSBL sonucu bulunmadı (Tablo 4.19).

Tablo 4.19. EUCAST HADT yöntemiyle GSBL taraması sonuçlarının referans yöntemle karşılaştırılması

		HADT tarama	Referans yöntem
<i>E.coli</i> (s=52)	GSBL(+)	18	20
	GSBL (-)	34	32
<i>K.pneumoniae</i> (s=31)	GSBL(+)	27	27
	GSBL (-)	4	4

HADT Yönteminde Sınır Değeri Olmayan Antibiyotiklerin Test Sonuçları

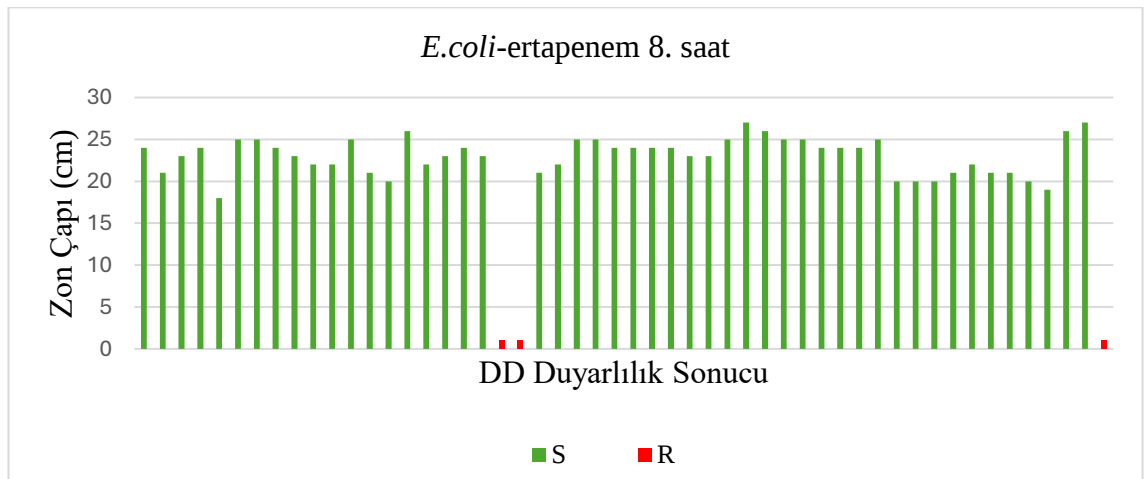
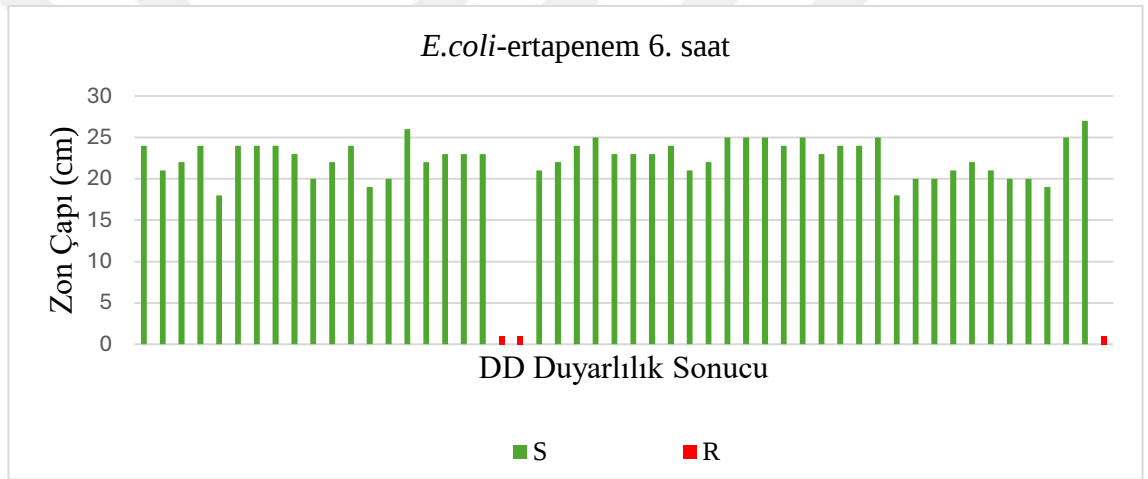
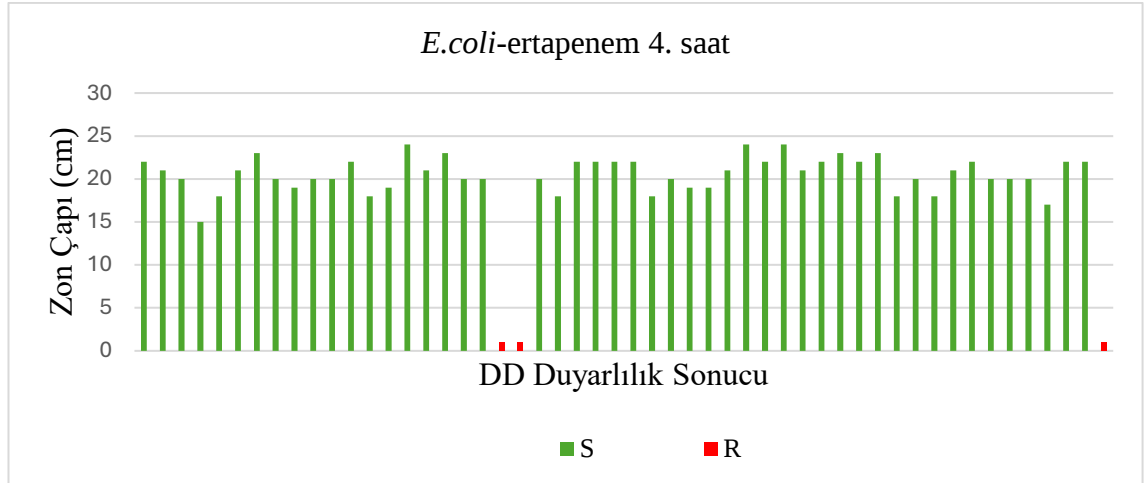
EUCAST HADT yönergesinde sonuç değeri bulunmayan ampisilin, ertapenem ve seftriakson *K.pneumoniae* izolatlarında, ertapenem ve seftriakson *E.coli* izolatlarında denendi ve HADT sonuçları disk difüzyon testi sonuçlarıyla karşılaştırıldı (Tablo 4.20 - Tablo 4.24).

E.coli izolatlarının disk difüzyon testiyle 49'unun ertapeneme duyarlı, 3'ünün dirençli olduğu bulundu. Disk difüzyon testiyle dirençli olan izolatların 3'ünün HADT'lerinde 4., 6. ve 8. saatler diskler etrafında zon oluşmadığı görüldü. Disk difüzyon testiyle ertapeneme duyarlı olan izolatların HADT'lerinin 4.saatindeki zon çapları, 18-24 mm, 6. saatte 18-27 mm ve 8.saatte 19-27 mm arasında ölçüldü (Tablo 4.20). *E.coli*-ertapenem hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı Şekil 4.3'te verildi.

Tablo 4.20. *E.coli*-ertapenem HADT ve disk difüzyon sonuçları

	HADT 4. saat zon çapı (mm)	HADT 6. saat zon çapı (mm)	HADT 8. saat zon çapı (mm)	Standart Disk Difüzyon zon çapı (mm)	Standart Disk Difüzyon Sonucu
1	22	24	24	29	S
2	21	21	21	27	S
3	20	22	23	26	S
4	15	24	24	25	S
5	18	18	18	24	S
6	21	24	25	30	S
7	23	24	25	30	S
8	20	24	24	31	S
9	19	23	23	30	S
10	20	20	22	33	S
11	20	22	22	33	S
12	22	24	25	40	S
13	18	19	21	32	S
14	19	20	20	30	S
15	24	26	26	37	S
16	21	22	22	36	S
17	23	23	23	36	S
18	20	23	24	39	S
19	20	23	23	40	S
20	ZY	ZY	ZY	ZY	R
21	ZY	ZY	ZY	ZY	R
22	20	21	21	35	S
23	18	22	22	32	S
24	22	24	25	37	S
25	22	25	25	37	S
26	22	23	24	36	S
27	22	23	24	35	S
28	18	23	24	31	S
29	20	24	24	35	S
30	19	21	23	36	S
31	19	22	23	36	S
32	21	25	25	40	S
33	24	25	27	39	S
34	22	25	26	38	S
35	24	24	25	36	S
36	21	25	25	33	S
37	22	23	24	36	S
38	23	24	24	39	S
39	22	24	24	37	S
40	23	25	25	36	S
41	18	18	20	24	S
42	20	20	20	26	S
43	18	20	20	24	S
44	21	21	21	24	S
45	22	22	22	26	S
46	20	21	21	24	S
47	20	20	21	24	S
48	20	20	20	26	S
49	17	19	19	27	S
50	22	25	26	31	S
51	22	27	27	32	S
52	ZY	ZY	ZY	ZY	R

ZY=İlgili antibiyotikğin etrafında inhibisyon zonu oluşmaması



Şekil 4.3. *E.coli*-ertapenem hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı

E.coli-seftriakson hızlı antibiyotik test sonuçların bakıldığında 4. saatte ≥ 17 mm, 6. saatte ≥ 17 mm ve 8. saatlerde ≥ 18 mm olarak ölçülen zon çaplarına sahip 27 izolat, disk difüzyon yöntemiyle duyarlı bulundu. (Tablo 4.21.) HADT'ta 4. saatte 0-17 mm, 6.saatte 0-18 mm, 8. Saatte 0-19 mm arasında değişen zon çapları olan 25 izolat disk difüzyon yöntemiyle seftriaksona dirençli bulundu. Dirençli izolatların 13'ünün üç saatte ölçülen zon çapları aynıydı *E.coli*-seftriakson hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı Şekil 4.4'te verildi.



Şekil 4.4. *E.coli*-seftriakson hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı

Tablo 4.21. *E.coli*-seftriakson HADT ve disk difüzyon sonuçları

	HADT 4. Saat zon çapı (mm)	HADT 6. Saat zon çapı (mm)	HADT 8. Saat zon çapı (mm)	Standart Disk Difüzyon zon çapı (mm)	Standart Disk Difüzyon Sonucu
1	19	22	22	30	S
2	14	15	15	20	R
3	8	8	9	9	R
4	-	10	10	11	R
5	ZY	ZY	ZY	10	R
6	19	19	20	28	S
7	18	20	24	30	S
8	19	20	21	33	S
9	18	20	22	30	S
10	13	13	13	11	R
11	16	16	16	13	R
12	18	22	25	36	S
13	11	11	11	ZY	R
14	12	12	13	ZY	R
15	23	25	25	33	S
16	21	24	25	34	S
17	20	20	22	32	S
18	20	22	23	34	S
19	21	22	22	35	S
20	13	17	18	34	S
21	17	17	21	32	S
22	19	22	22	35	S
23	17	17	20	30	S
24	20	21	24	35	S
25	20	22	22	38	S
26	17	18	19	ZY	R
27	10	10	10	ZY	R
28	10	13	13	14	R
29	12	13	15	18	R
30	12	16	16	17	R
31	12	15	15	17	R
32	19	24	25	36	S
33	18	26	26	37	S
34	20	25	25	35	S
35	13	13	13	17	R
36	12	12	12	17	R
37	18	20	20	36	S
38	20	20	22	35	S
39	22	22	25	31	S
40	20	20	24	31	S
41	11	11	11	14	R
42	15	14	14	14	R
43	14	14	15	12	R
44	10	10	10	11	R
45	10	10	10	14	R
46	10	10	10	13	R
47	15	15	15	11	R
48	11	11	11	15	R
49	14	20	20	32	S
50	21	24	26	33	S
51	19	22	24	34	S
52	ZY	ZY	ZY	ZY	R

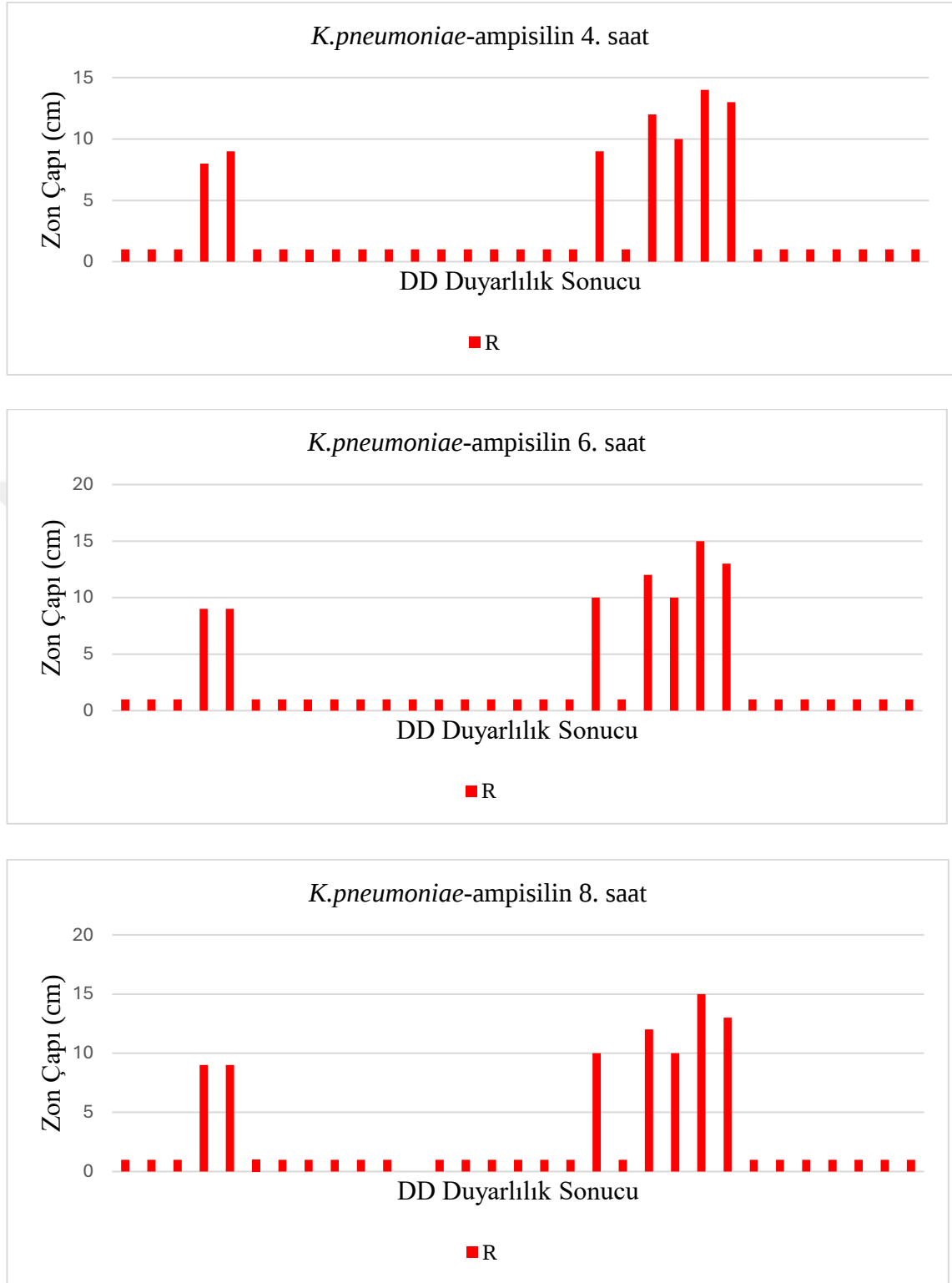
ZY=İlgili antibiyotikğin etrafında inhibisyon zonu oluşmaması

K.pneumoniae-ampisilin hızlı antibiyotik test sonuçlarına göre 31 izolat disk difüzyon testiyle ampisiline direçli bulundu. İzolatların 5'inin 4.saatinde 9-13 mm, 6 ve 8. saatlerde 10-15 mm'ydi. Diğer 26 izolatın üç saatte de zon oluşturmadağı görüldü (Tablo 4.22). *K.pneumoniae*-ampisilin hızlı antibiyotik duyarlılık deneylerinde bulunan inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı Şekil 4.5'te verildi.

Tablo 4.22. *K.pneumoniae*-ampisilin HADT ve disk difüzyon sonuçları

	HADT 4. Saat zon çapı (mm)	HADT 6. Saat zon çapı (mm)	HADT 8. Saat zon çapı (mm)	Standart Disk Difüzyon zon çapı (mm)	Standart Disk Difüzyon Sonucu
1	ZY	ZY	ZY	ZY	R
2	ZY	ZY	ZY	ZY	R
3	ZY	ZY	ZY	ZY	R
4	8	9	9	ZY	R
5	9	9	9	ZY	R
6	ZY	ZY	ZY	ZY	R
7	ZY	ZY	ZY	ZY	R
8	ZY	ZY	ZY	ZY	R
9	ZY	ZY	ZY	ZY	R
10	ZY	ZY	ZY	ZY	R
11	ZY	ZY	ZY	ZY	R
12	ZY	ZY	ZY	ZY	R
13	ZY	ZY	ZY	ZY	R
14	ZY	ZY	ZY	ZY	R
15	ZY	ZY	ZY	ZY	R
16	ZY	ZY	ZY	ZY	R
17	ZY	ZY	ZY	ZY	R
18	ZY	ZY	ZY	ZY	R
19	9	10	10	12	R
20	ZY	ZY	ZY	ZY	R
21	12	12	12	ZY	R
22	10	10	10	ZY	R
23	14	15	15	ZY	R
24	13	13	13	ZY	R
25	ZY	ZY	ZY	ZY	R
26	ZY	ZY	ZY	ZY	R
27	ZY	ZY	ZY	ZY	R
28	ZY	ZY	ZY	ZY	R
29	ZY	ZY	ZY	ZY	R
30	ZY	ZY	ZY	ZY	R
31	ZY	ZY	ZY	ZY	R

ZY=İlgili antibiyotiğin etrafında inhibisyon zonu oluşmaması

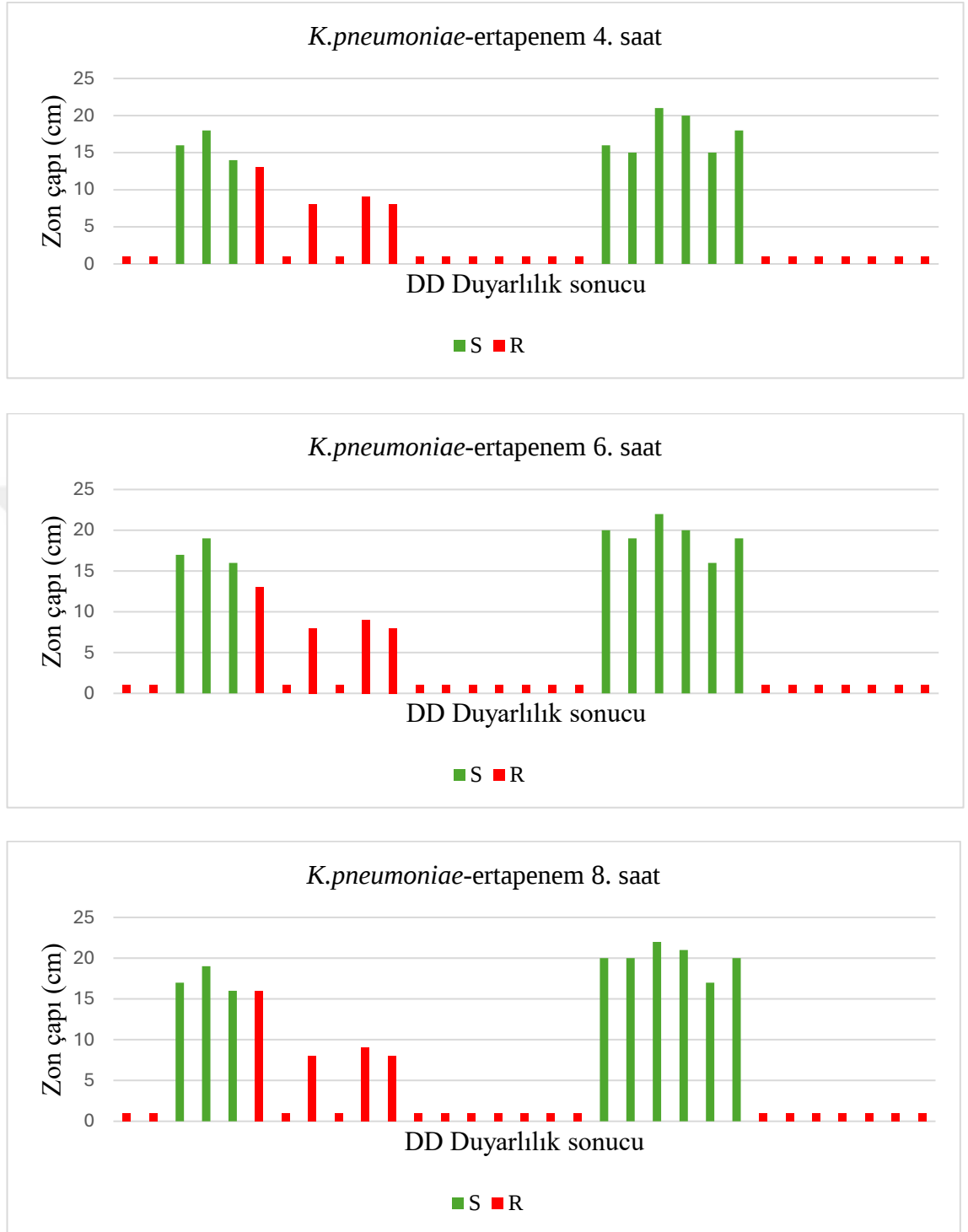


K.pneumoniae-ertapenem hızlı antibiyotik test sonuçlarıyla disk difüzyon testinin sonuçlarına bakıldığında 22 izolatın ertapeneme dirençli olduğu, bu izolatlara ait HADT'inin 4.saatinde 11 izolatın ertapenem disklerinde zon oluşmadığı ve 6. ve 8. saatlerde de inhibisyon zonunun oluşmadığı saptandı. Ertapeneme duyarlı olan izolatlara ait zon çapları 14-22 mm arasında değişmekteydi. HADT'inde 4. saatte ≥ 14 mm, 6. saatte ≥ 16 mm ve 8. saatlerde ≥ 17 mm zon çapları olan izolatlar disk difüzyon yöntemiyle duyarlı bulundu (Tablo 4.23). *K.pneumoniae*-ertapenem hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı Şekil 4.6'da verildi.

Tablo 4.23. *K.pneumoniae*-ertapenem HADT ve disk difüzyon sonuçları

	HADT 4. Saat zon çapı (mm)	HADT 6. Saat zon çapı (mm)	HADT 8. Saat zon çapı (mm)	Standart Disk Difüzyon zon çapı (mm)	Standart Disk Difüzyon Sonucu
1	ZY	ZY	ZY	ZY	R
2	ZY	Y	ZY	ZY	R
3	16	17	17	18	S
4	18	19	19	20	S
5	14	16	16	21	S
6	13	13	16	21	R
7	ZY	ZY	ZY	ZY	R
8	8	8	8	ZY	R
9	ZY	ZY	ZY	ZY	R
10	9	9	9	13	R
11	8	8	8	14	R
12	ZY	ZY	ZY	ZY	R
13	ZY	ZY	ZY	ZY	R
14	ZY	ZY	ZY	ZY	R
15	ZY	ZY	ZY	ZY	R
16	ZY	Y	ZY	ZY	R
17	Y	ZY	ZY	ZY	R
18	ZY	Y	ZY	17	R
19	16	20	20	29	S
20	15	19	20	28	S
21	21	22	22	37	S
22	20	20	21	35	S
23	15	16	17	34	S
24	18	19	20	30	S
25	ZY	ZY	ZY	ZY	R
26	ZY	ZY	ZY	ZY	R
27	ZY	ZY	ZY	ZY	R
28	ZY	ZY	ZY	ZY	R
29	ZY	ZY	ZY	ZY	R
30	ZY	ZY	ZY	ZY	R
31	ZY	ZY	ZY	ZY	R

ZY=İlgili antibiyotiğin etrafında inhibisyon zonu oluşmaması



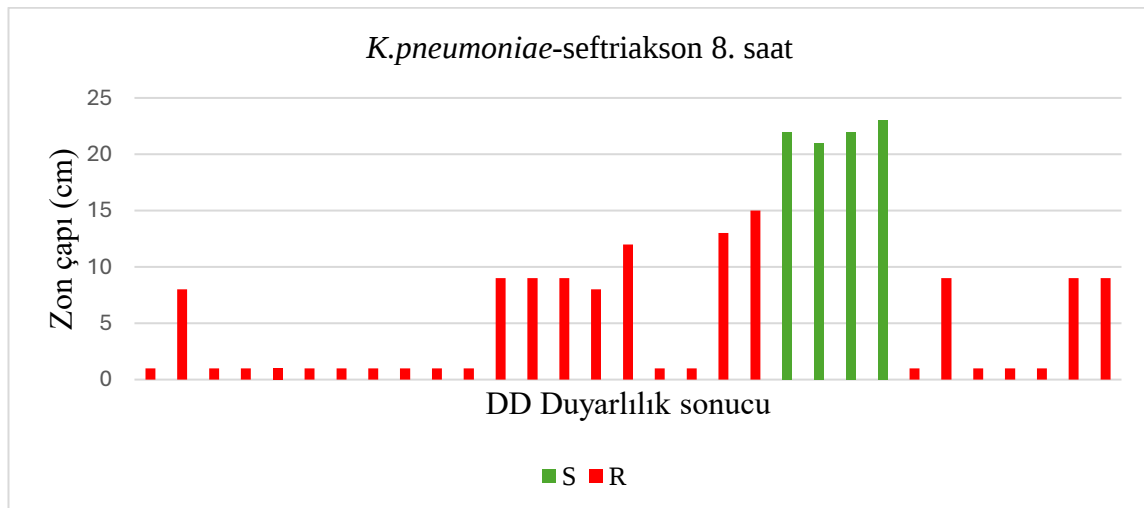
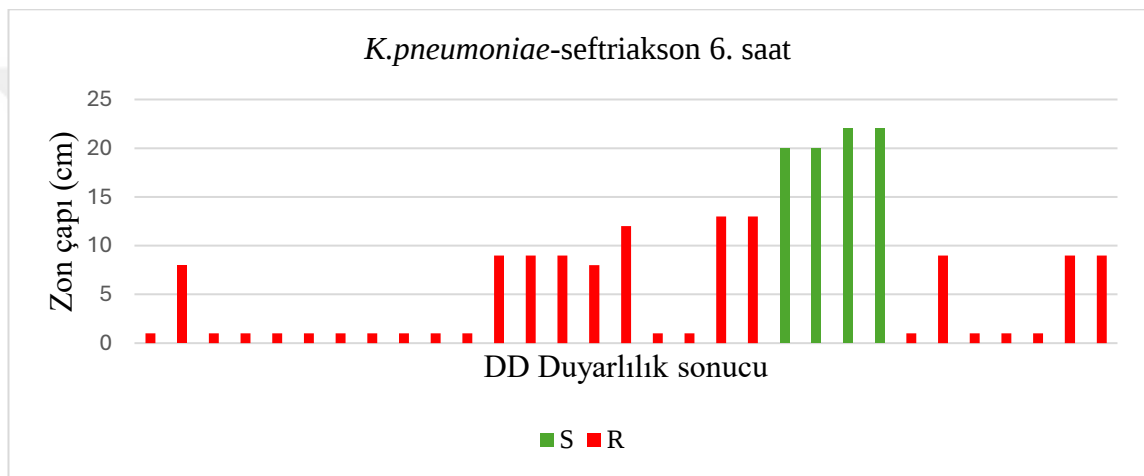
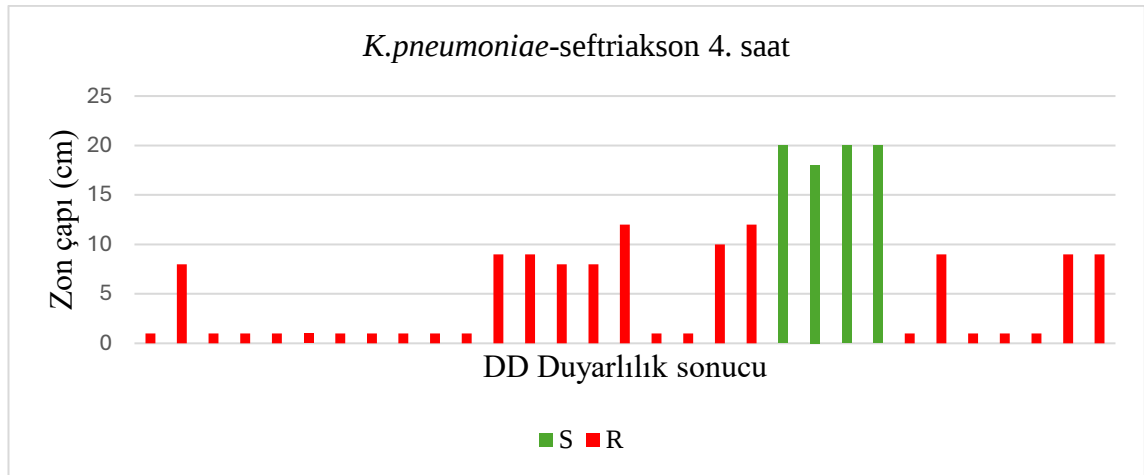
Şekil 4.6. *K.pneumoniae*-ertapenem hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı

K.pneumoniae-seftriakson hızlı antibiyotik testi yapılan 31 izolatın 27'si disk difüzyon testiyle dirençli, 4'ü duyarlı bulundu. Duyarlı izolatların HADT'inde seftriakson zon çapları 4. saatte ≥ 18 mm, 6. saatte ≥ 20 mm ve 8. saatlerde ≥ 21 mm değerlerindeydi. Dirençli olan izolatların HADT'inde zon çapları 4. saatte ≤ 12 mm, 6. saatte ≤ 13 mm ve 8. saatlerde ≤ 15 mm bulundu (Tablo 4.24). *K.pneumoniae*-seftriakson hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı Şekil 4.7'de verildi.

Tablo 4.24. *K.pneumoniae*-seftriakson HADT ve disk difüzyon sonuçları

	HADT 4. Saat zon çapı (mm)	HADT 6. Saat zon çapı (mm)	HADT 8. Saat zon çapı (mm)	Standart Disk Difüzyon zon çapı (mm)	Standart Disk Difüzyon Sonucu
1	ZY	ZY	ZY	ZY	R
2	8	8	8	ZY	R
3	ZY	ZY	ZY	10	R
4	ZY	ZY	ZY	ZY	R
5	ZY	ZY	ZY	ZY	R
6	ZY	ZY	ZY	ZY	R
7	ZY	ZY	ZY	ZY	R
8	ZY	ZY	ZY	ZY	R
9	ZY	ZY	ZY	ZY	R
10	ZY	ZY	ZY	ZY	R
11	ZY	ZY	ZY	ZY	R
12	9	9	9	ZY	R
13	9	9	9	ZY	R
14	8	9	9	ZY	R
15	8	8	8	ZY	R
16	12	12	12	14	R
17	ZY	ZY	ZY	17	R
18	ZY	ZY	ZY	ZY	R
19	10	13	13	10	R
20	12	13	15	ZY	R
21	20	20	22	31	S
22	18	20	21	34	S
23	20	22	22	29	S
24	20	22	23	30	S
25	ZY	ZY	ZY	10	R
26	9	9	9	11	R
27	ZY	ZY	ZY	9	R
28	ZY	ZY	ZY	11	R
29	ZY	ZY	ZY	10	R
30	9	9	9	10	R
31	9	9	9	13	R

ZY=İlgili antibiyotiğin etrafında inhibisyon zonu oluşmaması



Şekil 4.7. *K.pneumoniae*-seftriakson hızlı antibiyotik inhibisyon zon çapı değerlerinin disk difüzyon sonuçlarına göre dağılımı

5. TARTIŞMA

Dünya çapında sepsis ve kan dolaşım enfeksiyonları yüksek ölüm riski taşıyan önemli bir sağlık sorunudur. Kan dolaşım enfeksiyonlarına bağlı ölüm oranları %15 ile %30 arasında değişmektedir [56]. Bunun yanında steril vücut boşluklarından herhangi birinin (BOS, plevral sıvı vb.) etkilenmiş olduğu enfeksiyonlar da sepsise ve artmış mortalite ve morbiditeye sebep olur [1]. Kan dolaşım enfeksiyonları ve sepsiste mortalite ve morbiditeyi azaltmak için antibiyotik tedavisine uygun antibiyotik ile hızlı bir şekilde başlanması gerekir. Sepsis tedavisinde gecikilen her saatin mortaliteyi %7 oranında arttırdığı bilinmektedir [57]. Bu sebeplerle enfeksiyona neden olan etken mikroorganizmanın en kısa sürede belirlenmesi ve klinisyene bildirilmesi önemlidir. Kan dolaşım enfeksiyonlarının tanısında altın standart yöntem kan kültürüdür. Diğer steril vücut sıvılarının enfeksiyonlarının tanısında altın standart yöntem ise etken mikroorganizmanın ilgili örneğe ait kültüründen izole edilmesidir [1]. Günümüzde kan kültürü tanısı için manuel yöntemler yerine otomatize sistemler kullanılmaya başlanmıştır. Otomatize sistemlerde kültür şişesi pozitif sinyal verdikten sonra etkenin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin sonuçlanması için 36-48 saatlik bir süreye ihtiyaç duyulmaktadır [58]. Bu sürelerin kısalması ve etkin tedaviye bir an önce başlanabilmesi için hızlı tanı testleri geliştirilmeye başlanmıştır [59].

Enfeksiyona etken olan mikroorganizmanın tanımlama süresini kısaltmak için klinik örneklerden direkt tanımlama yöntemleri geliştirilmiştir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygınlaşarak kullanılmaya başlanan MALDİTOF-MS teknolojisi, son zamanlarda çeşitli prosedürler oluşturularak pozitif kültür şişelerinden etken patojenin direkt ve hızlı tanımlanması için kullanılmaktadır. Birçok araştırmacı ticari kitler geliştirerek ya da protein ekstraksiyonu yöntemlerini kullanarak MALDİ-TOF MS ile hızlı tanımlama prosedürlerini oluşturmuşlardır [54, 60, 61]. Böylece sepsis, septik artrit, bakteriyel peritonit ve bakteriyel menenjit gibi hayatı tehdit eden enfeksiyonlarda geliştirilen bu tanımlama prosedürlerinin hızlı tanı koymaya yardımcı olacağı öngörülmektedir.

MALDİ-TOF MS kullanılarak cihaz veri tabanında bulunan bütün mikroorganizmalar hızlı tanımlama prosedürleri ile tanımlanabilmektedir.

Çalışmalarda protein ekstraksiyonu çok farklı şekillerde uygulandığı için bu çalışmaları doğrudan karşılaştırmak zordur. Ancak mevcut bilgilere göre hızlı tanımlama yöntemleri ile gram negatif bakterilerin tür düzeyinde tanımlama başarısı gram pozitif bakterilere göre daha yüksektir. Bu farkın hücre duvar yapısındaki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir [62]. Literatürde farklı hızlı tanımlama prosedürleri uygulanarak MALDİ-TOF MS teknolojisi ile hızlı mikroorganizma tanımlaması yapan birçok çalışma bulunmaktadır.

MALDİ-TOF MS ile hızlı tanımlama sonucu gram negatif bakterilerin tür düzeyinde tanımlama başarısı %84 ile %99, gram pozitif bakterilerin tür düzeyinde tanımlama başarısı ise %32 ile %96 arasında değişmektedir [39, 63]. Çalışmamızda Tween ® 80 ekstraksiyonu uygulanarak yapılan hızlı tanımlama sonuçlarına göre gram negatif bakterilerin tür düzeyinde tanımlama başarısı %78,1 gram pozitif bakterilerin tür düzeyinde tanımlama başarısı %26,3 olarak bulunmuştur. Tanımlama sonuçlarımızın daha önce yapılan çalışmalarda bulunan oranlardan daha düşük olduğu görülmüştür. Bunun sebepleri arasında kültür şişelerinde bakteri yükünün az olması veya protein ekstraksiyon yöntemimizin literatürde yapılan çalışmalardaki protein ekstraksiyon yöntemlerinden farklı olmasından kaynaklanabilir. Ancak çalışmamızda kültür şişelerindeki bakteri yükü bilinmemektedir. Bu konuya açıklık getirmek için yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Süzük ve arkadaşlarının 502 kan kültürü şişesini dahil ettikleri çalışmada, kan kültürü şişelerinin 462'sinde monomikrobiyal, 40'ında polimikrobiyal üreme saptanmıştır. Monomikrobiyal kan kültürü şişelerinden laboratuvarlarında geliştirilen Tween ® 80 ekstraksiyon yöntemiyle tanımlama başarısını %82,9 olarak bildirmişlerdir. Değerlendirme kriteri olarak tür ve cins düzeyinde doğru tanımlamayı, tanımlama başarısı olarak belirlemişlerdir [54]. Çalışmamızda toplam tür düzeyinde tanımlama başarısı %58,8, tür ve cins düzeyinde %97,3 olarak bulunmuştur. Süzük ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya kıyasla çalışmamızda tür ve cins düzeyindeki toplam tanımlama başarısının daha yüksek olması bizim çalışmamıza dahil edilen gram negatif bakterilerin Süzük ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan oransal olarak daha yüksek olmasından kaynaklanmış olabilir.

Leli ve arkadaşlarının Tween ® 80 protein ekstraksiyonu yöntemini kullanarak 109 kan kültürü şişesinden MALDI-TOF MS ile yaptıkları hızlı tanımlama çalışmasında, tür düzeyinde tanımlama başarıları %77,9 toplam tür ve cins düzeyindeki tanımlama başarılarını %91,7 olarak bulunmuştur. Gram negatif bakterilerin tanımlanma başarıları %100, gram pozitif bakterilerin ise %91,9 olarak bulunmuştur [53]. Çalışmamızda tür ve cins düzeyinde toplam tanımlama başarıları Leli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayla uyumlu ve gram negatif bakterilerin toplam tür ve cins düzeyinde tanımlama başarıları %100, gram pozitif bakterilerin toplam tür ve cins düzeyinde tanımlama başarıları %94,7 bulunmuştur.

Çubuk ve arkadaşları, 2021 yılında Tween ® 80 protein ekstraksiyonu yöntemini uygulayarak toplam 97 steril vücut sıvısı örneğini içeren kültür şişesine MALDI-TOF MS ile hızlı tanımlama prosedürünü uygulamışlardır. Araştırmacılar örneklerin %53,6'sı tür düzeyinde, %81,4'ü cins düzeyinde tanımlamıştır [64]. Bizim çalışmamıza benzer şekilde (%58,8) tür düzeyi başarı oranı elde etmişlerdir. Cins düzeyinde toplam başarı oranı bizim çalışmamızda daha yüksek (%97,3) bulunmuştur. Bunun sebebi Çubuk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kan örneklerine yer verilmemesi, bizim çalışmamızın büyük çoğunluğunun ise kan örneklerinin oluşturması nedeniyle yöntemin kan örneklerinde daha iyi çalışmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Hızlı tanımlama yöntemlerinde kan kültürü şişelerinden alınan örneklerle uygulanan ekstraksiyon yönteminde kullanılan çözeltilerin tanımlama başarılarını etkileyebileceği öne sürülmüştür. Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 92 monomikrobiyal üreme tespit edilen kan kültürü şişesinden protein ekstraksiyonunda saponin ve MALDI Sepsityper kiti kullanılmış, saponin ekstraksiyonuyla, tür düzeyinde %80,4 ve cins düzeyinde %96,7 tanımlama başarıları elde etmişlerdir. MALDI Sepsityper kiti kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonucunda ise, tür düzeyinde %81,5 ve cins düzeyinde %93,5 tanımlama başarıları bildirmişlerdir [65].

Tanner ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptığı bir çalışmada, protein ekstraksiyonunda, sodyum dodesil sülfat (SDS), saponin, MALDI Sepsityper kitinin hızlı tanımlama performansı karşılaştırılmıştır. Çalışmaya pozitif sinyal veren 176 kan kültürü şişesi dahil edilmiştir. Bu kültürlerin 144'ünde monomikrobiyal ve 32'sinde

polimikrobiyal üreme tespit edilmiştir. Monomikrobiyal kan kültürü şişelerinden hızlı tanımlama ile elde edilen sonuçlara bakıldığında SDS, saponin ve MALDİ Sepsityper kiti ile yapılan ekstraksiyon işlemleri sonunda tür düzeyinde sırasıyla, %60, %48 ve %63; cins düzeyinde sırasıyla %72, %69 ve %74 tanımlama başarısı elde sağlanmıştır [66].

Çalışmamızda Tween ® 80 kullanarak yaptığımız ekstraksiyon sonucu tür düzeyinde daha düşük oranda başarı (%58,8) elde edilmesinin nedeni ekstraksiyon yöntemlerinde kullanılan çözeltilerin farklı olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sepsiste etkili antibiyotik tedavisinin hastaların mortalitesinin azalttığını bildiren yayınlar mevcuttur [67]. Kullanılan antibiyotiklere direnç gelişiminin artması sebebiyle ampirik tedavilerin başarısızlığı da artmaktadır [3]. Tedavide doğru antibiyotiğin kullanılması için, sepsis ve kan dolaşım enfeksiyonlarındaki etkenlerin erken belirlenmesi kadar antibiyotik duyarlılık testlerinin de kısa sürede sonuçlanması büyük önem taşımaktadır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulanan geleneksel yöntemlere göre sepsiste ve kan dolaşım enfeksiyonlarında etken mikroorganizmayı tanımlamak ve antibiyotik duyarlılık sonuçlarını elde etmek için yaklaşık 48 saate ihtiyaç vardır. Bu sürelerin kısalması için hızlı tanımlama prosedürlerine ek olarak hızlı antibiyotik test uygulamalarına da ihtiyaç duyulmaktadır. Pozitif kan kültürü şişesinden direkt inokülasyon ile kısa inkübasyon saatleri kullanılarak antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması 1980 yılından beri uygulanmakta olup bu testlerin standardizasyonu olmadığı için rutin laboratuvar uygulamaları arasına girememiştir. EUCAST 2019 yılında kan kültürü şişesinden direkt antibiyotik duyarlılık testleri için kısa inkübasyon saatlerine ait zon çapı sınır değerleri oluşturarak HADT yöntemini geliştirmiş ve yayınlamıştır. Ancak bu yöntemin de bazı kısıtlılıkları mevcuttur. HADT yöntemine göre sadece belirli bakteriler ve bu bakterilere ait belirlenmiş bazı antibiyotikler test edilebilir. Ayrıca HADT yönteminde hata oranlarını ve tedavi başarısızlığını engellemek için teknik belirsizlik alanı (ATU) denilen zon çapları duyarlı veya dirençli olarak yorumlanmaya uygun değildir. HADT yöntemine göre test edilen antibiyotik sonucu ATU olarak değerlendiriliyorsa, o antibiyotik için hızlı duyarlılık sonucunun verilmemesi önerilir.

Duyarlılık sonucu için ek olarak rutin antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılmasına ihtiyaç vardır.

Åkerlund ve arkadaşlarının 2017 ve 2018 yılları arasında 55 Avrupa laboratuvarının katıldığı ve kan kültürü örneklerinden yaptıkları HADT çalışmasında EUCAST HADT 1. versiyon sınır değerlerine göre 4. 6. ve 8. saatlerde okunabilen zon sayısı oranları sırasıyla %88, %96 ve %96 ve ATU oranları sırasıyla %30, %19 ve %15 olarak bulunmuştur. HADT’ndeki duyarlı ve dirençli sonuçlar üzerinden (hata sayısının toplam duyarlı ve dirençli izolat sayısına oranı), disk difüzyon testine göre testin hataları hesaplanmıştır. HADT’in 4. 6. ve 8. saatlerde ÇBH oranları sırasıyla, %0,2, %0,4 ve %0,5, BH oranları, %2,1, %1,1 ve %0,9 olarak bulunmuştur. HADT’in standart disk difüzyona göre kategorik uyumu 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla, %97, %97,9 ve %97,8 olarak hesaplanmıştır [6].

Martin ve arkadaşlarının HADT yöntemini gram negatif kan dolaşım enfeksiyon etkenlerine uyguladıkları ve 61 izolatın (41 *E.coli*, 11 *K.pneumoniae* ve 9 *P.aeruginosa*) dahil edildiği çalışmada, testin inkübasyonunun 4. 6. ve 8. saatlerinde okunabilen zon sayısı oranları %92,6, %97,3 ve %99,5, ATU değerleri sırasıyla, %9,4, %5,5 ve %4,4 olarak bulunmuştur. HADT’ndeki duyarlı ve dirençli sonuçlar üzerinden, disk difüzyon testine göre testin hatalar hesaplanmıştır. ÇBH ve BH yalnızca 4. saatte tespit edilebilmiş ve sırasıyla %0,2 ve %0,3 olarak bulunmuştur. HADT yönteminin standart disk difüzyona göre kategorik uyumu ise 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %99,3, %99,6 ve %99,6 olarak saptanmıştır [7].

Tayşi ve arkadaşlarının toplam 111 izolatla yaptıkları çalışmada, MALDI-TOF MS kullanmadan basit tanımlayıcı testler ile kan kültüründen üretilen bakterilere HADT yöntemini uygulamışlar ve sonuçlarını standart disk difüzyon sonuçlarıyla karşılaştırmışlardır. Çalışmada 4. 6. ve 8. saatlerde okunabilen zon sayısı oranları sırasıyla %88,4, %98,8 ve %99,9 iken, ATU olarak değerlendirilen sonuçlar sırasıyla %12,3 %8,8 ve %7,2 olarak bulunmuştur. HADT’ndeki duyarlı ve dirençli sonuçlar üzerinden, disk difüzyon testine göre hatalar hesaplandığında; 4. 6. ve 8. saatlerde ÇBH oranları sırasıyla % 0,7, %1,3 ve %1,2, BH oranları %0,9, %0,9 ve %1 ve KH oranları %1,1, %1 ve %1 olarak saptanmıştır. HADT sonuçlarının standart disk

difüzyona göre kategorik uyumu ise 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %97,3 %96,7 ve %96,8 olarak hesaplanmıştır [8].

Jasuja ve arkadaşlarının kan dışındaki diğer steril vücut sıvı kültürlerinde üreyen 345 izolatın EUCAST HADT antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları bir çalışmada, testin 6. inkübasyon saatindeki HADT sonuçları, aynı izolatlara ait Vitek 2 otomatize sistem sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır HADT'inin ATU oranı %8,7 olarak bulunmuştur. HADT'ndeki duyarlı ve dirençli sonuçların toplamı üzerinden, disk difüzyon testine göre hatalar hesaplandığında; ÇBH tespit edilememiş olup, BH oranı %3,1 ve KH oranı %0,9 olarak hesaplanmıştır. HADT yönteminin Vitek 2 otomatize sistem sonuçlarına göre kategorik uyumu %96,5 olarak bulunmuştur [68].

Antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulanabilir olduğunu göstermek için referans antibiyotik duyarlılık testleriyle karşılaştıran elde edilen sonuçların belirli hata oran sınırlarında olması gerektiğini bildiren standartlar yayınlanmıştır. Bu standartlardan biri, ABD Gıda ve İlaç Dairesinin (FDA), ticari bir antibiyotik duyarlılık testinin uygulanabilir olduğunu değerlendirmek ve onaylamak için belirlediği kriterleri içermektedir. Bu kriter gere, test edilecek yöntem referans yöntemine göre değerlendirildiğinde, testin kategorik uyumunun ≥ 90 , çok büyük hata oranının $\leq 1,5$, büyük hata oranının $\leq 3,0$ ve küçük hata oranının < 10 olması gerektiği şeklindedir [55].

Çalışmamızda HADT yöntemi sonuçları, disk difüzyon yöntemi sonuçlarıyla FDA kriterine göre karşılaştırıldı, HADT'inin hata sayı ve oranları hesaplandı. HADT'inin 4. 6. ve 8. saatlerde ÇBH oranları sırasıyla, %8,2, %7,0 ve %7,4; BH oranları sırasıyla %0,9, %0,8 ve %0,7; KH oranları sırasıyla %0,2, %0,4 ve %0,5 olarak bulundu. HADT yönteminin standart disk difüzyona göre kategorik uyumu ise 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %95,4 %96,4 ve %96,3 olarak hesaplandı. En yüksek ÇBH oranları ampisilin ve amoksisilin/klavulanik asite aitti. Çalışmamızda HADT'inin ÇBH oranları literatürdeki yapılan çalışmalardan daha yüksek bulunmuştur. Bu durum çalışmamızda HADT versiyon 6.1 sınır değer tablolarının kullanılması, HADT versiyon 6'dan önceki sınır değer tablolarında ampisilin ve amoksisilin/klavulanik asit antibiyotiklerine ait sınır değerleri bulunmaması nedeniyle diğer çalışmalara bu antibiyotiklerin dahil edilmemesinden kaynaklanabildiğini

düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmaların çoğunda hata oranlarının dirençli ve duyarlı izolat sayısına bölünerek elde edildiği görülmüştür. Çalışmamızda hata oranları ise, kriterde belirtilen formüller üzerinden hesaplanmıştır.

Çalışmamızda steril sıvı kültürlerinden izole edilen izolatlarla ait inhibisyon zon çaplarının literatürdeki çalışmalara benzer olarak okunabilme oranlarının (%96,4, %99,9 ve %100) inkübasyon süreleriyle (4., 6. ve 8.) arttığı, teknik belirsizlik alanı (ATU) sonuçlarının (%12,8, %7,9, %6,2) inkübasyon süreleriyle azaldığı bulunmuştur.

Steril sıvı kültürlerinde en sık izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının HADT ve standart disk difüzyon yöntemi sonuçları karşılaştırıldığında; ATU sonuçları en fazla 4. saatte piperasilin tazobaktamda, 6. ve 8. saatlerde amoksisilin klavulanik asitte olduğu bulunmuştur. HADT'inin ÇBH sayıları 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla, 40 (%8,9), 34 (%7,6) ve 36 (%8,0), BH sayıları 13 (%1,9), 6 (%0,9) ve 7 (%1,0), KH sayıları 6 (%0,5), 8 (%0,7) ve 9 (%0,8) olarak hesaplanmıştır. BH ve KH oranları FDA kriterlerine uymasına karşın ÇBH oranları yüksek bulunmuştur. Bu, test edilen yeterli sayıda dirençli izolatın olmamasından kaynaklanmış olabilir. Tüm antibiyotikler içinde her üç inkübasyon saatinde amikasin ve meropenem ait ÇBH oranı her iki antibiyotik için de %0, BH oranı sırasıyla %1,3 ve %1,7 ve KH oranı sırasıyla %0 ve %2,4 (4. Saatte %0, 6 ve 8. Saatlerde %2,4) bulunmuştur. İnkübasyonun 6. saatinden itibaren siprofloksasin, seftazidim avibaktam ve piperasilin tazobaktama ait ÇBH ve BH oranı her üçünde de %0, KH oranı sırasıyla %2,4, %0 ve %0 bulunarak bu antibiyotiklerin FDA kriterlerine göre uygulanabilir olduğu tespit edilmiştir. FDA kriterlerine uymayan antibiyotiklerin; ampisilin, amoksisilin klavulanik asit, seftazidim, gentamisin, sefotaksim, imipenem, levofloksasin, trimetoprim sulfametoksazol ve tobramisin olduğu görülmüştür.

Martins ve arkadaşlarının HADT yöntemini gram negatif kan dolaşım enfeksiyon etkenlerine uyguladıkları ve 61 izolatın (36 *E.coli*, 25 *K.pneumoniae*) dahil edildiği çalışmada 8 antibiyotik test edilmiştir. Test edilen antibiyotikler içinde, 4. saatte en yüksek KH (%35) ve BH (%5) piperasilin tazobaktamda bulunurken; 6. saatte en yüksek KH (%9,8) amikasinde bulunmuştur. En yüksek ÇBH, 4. ve 6. saatlerde gentamisin ve tobramisinde gözlenmiştir. En iyi kategorik uyum 4. saatte

siprofloksasinde (%94,6), 6. saatte gentamisinde (%98,4) bulunmuştur [69]. Çalışmamızda HADT'inde 52 *E.coli* ve 31 *K.pneumoniae* izolatı sırasıyla 14 ve 13 antibiyotikle çalışılmıştır. Her iki izolat için de test edilen antibiyotikler içinde 4. saatte en yüksek ÇBH seftazidim avibaktamda (%50), 6. saatte trimetoprim sülfametoksazolde (%20,6) ve 8. saatte amoksisilin klavulanik (%23,2) asitte bulunmuştur. En yüksek BH, 4. saatte amoksisilin klavulanik asitte (%7,4), 6. ve 8. saatlerde trimetoprim sülfametoksazolde; en yüksek KH, 4. 6. ve 8. saatlerde trimetoprim sülfametoksazolde bulunmuştur. Martins ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu antibiyotiklere yer verilmemiştir. Çalışmamızda en iyi kategorik uyum 4. saatte seftazidim avibaktamda (%98,8), 6. ve 8. saatlerde piperasilin tazobaktam (%100) ve seftazidim avibaktamda (%100) görülmüştür.

Berinson ve arkadaşlarının gram negatif bakterilere HADT yöntemini uygulayarak gerçekleştirdiği bir çalışmada; *E.coli* ve *K.pneumoniae* ATU sonucu test edilen antibiyotikler içinde en fazla piperasilin/tazobaktamda görülmüştür. ÇBH oranları *E.coli* de en fazla sefotaksimde, *K.pneumoniae*'de piperasilin/tazobaktamda bulunmuştur [70].

Çalışmamızda *E.coli*'de en fazla ATU sonucuna sebep olan antibiyotikler; amoksisilin klavulanik asit, piperasilin tazobaktam ve seftazidim, *K.pneumoniae*'da imipenem ve *P.aeruginosa*'da piperasilin tazobaktam'dı. *E.coli*'de en fazla ÇBH, ampisilin ve amoksisilin klavulanik asitten kaynaklanırken, *K.pneumoniae*'da trimetoprim sulfametoksazolden kaynaklandı.

Çalışmamızda 45 *S.aureus*, izolatına HADT yöntemi uygulanmış ancak ÇBH, BH ve KH bulunmamıştır. Bu çalışmaya aldığımız *S.aureus* izolatlarının test edilen antibiyotiklere karşı direnç oranlarının az olmasından kaynaklanmış olabilir. Çalışmaya 4 *A.baumannii*, 9 *P.aeruginosa*, 8 *E.faecalis* ve 4 *E. Faecium* izolatı alınmış, bu izolatların sayısı az olduğu için hata oranları hesaplanmamıştır.

Åkerlund ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 62 GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının HADT yöntemiyle bu direnç mekanizmasını tespit edebilme durumu değerlendirilmiştir [6]. Çalışmalarında GSBL üreten izolatların tümü HADT yöntemiyle sefotaksim ve seftazidim tarama sınır değerleri kullanılarak tespit edilebilmiştir. Tayşi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 44 GSBL pozitif *E.coli*

ve *K.pneumoniae* izolatına HADT GSBL tarama sınır değerleri uygulanarak direnç mekanizmasını tespit etmeye çalışmışlardır. GSBL pozitif tüm isolatlar HADT yöntemiyle doğru bir şekilde tespit edilebilmiştir. İnkübasyonun 4. saatinde 1 izolatta ve inkübasyonun 8. saatinde 1 izolatta GSBL tarama sonucu yanlış pozitif olarak bulunmuştur [8].

Çalışmamızda 47 GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatına HADT GSBL tarama sınır değerleri uygulandı ve 45 GSBL pozitif izolat doğru bir şekilde tespit edildi. GSBL pozitif 2 *E.coli* izolatı HADT yöntemine göre tespit edilemedi.

Çalışmamızda EUCAST HADT yönergesinde sonuç değeri bulunmayan ampicilin, ertapenem ve seftriakson *K.pneumoniae* izolatlarında, ertapenem ve seftriakson *E.coli* izolatlarında denenmiş ve HADT sonuçları disk difüzyon testi sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. *E.coli*-ertapenem için 4. 6. ve 8. saatte zon oluşturmayan isolatlar disk difüzyon testinde dirençli bulunmuştur. Disk difüzyon testinde duyarlı isolatlar içinde ölçülen en düşük zon çapları 4. saatte 15 mm, 6. ve 8. saatte 18 mm olmuştur. *E.coli*-seftriakson için zon oluşturmayan isolatlar disk difüzyon testinde dirençli bulundu. Disk difüzyon testinde dirençli olan isolatlar içinde en yüksek zon çapı 4. 6. ve 8. saatte 16 mm ölçüldü. *K.pneumoniae*-ampicilin için disk difüzyon testinde dirençli isolatlar içinde en yüksek zon çapı 4. saatte 14 mm 6. ve 8. saatlerde 15 mm olarak ölçüldü. *K.pneumoniae*-ertapenem için disk difüzyon testinde dirençli isolatlar içinde en yüksek zon çapı 4.ve 6. saatlerde 13 mm 8. saatte 16 mm olarak ölçüldü. *K.pneumoniae*-seftriakson disk difüzyon testinde dirençli isolatlar içinde en yüksek zon çapı 4. saatte 12 mm, 6. saatte 13 mm ve 8. saatte 15 mm olarak ölçüldü. Zon çaplarının doğru yorumlanabilmesi için daha fazla izolatta çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Ekim 2023 ve Şubat 2024 tarihleri arasında kültür işlemleri için gönderilen kan ve diğer steril vücut sıvılarına, kültür şişelerinden doğrudan tanımlama ve üreyen izolatlara hızlı antibiyotik duyarlılık test işlemleri uygulandı. Hızlı antibiyotik duyarlılık testi yöntemi, standart disk difüzyonla karşılaştırılarak bu yöntemin doğruluğu araştırıldı. Çalışma sonuçları şöyleydi:

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Ekim 2023 ve Şubat 2024 tarihleri arasında kültür işlemleri için gönderilen kan ve diğer steril vücut sıvılarına, kültür şişelerinden doğrudan tanımlama ve üreyen izolatlara hızlı antibiyotik duyarlılık test işlemleri uygulandı. Hızlı antibiyotik duyarlılık testi yöntemi, standart disk difüzyonla karşılaştırılarak bu yöntemin doğruluğu araştırıldı. Çalışma sonuçları şöyleydi:

1. Toplam 153 izolatın 142'si kan kültürlerinden, 11'i diğer steril vücut sıvılarının kültüründen elde edildi.
2. İzolatların 96'sı gram negatif, 57'si gram pozitif boyanma özelliği gösterdi. Gram negatif izolatların 52'si *E.coli*, 31'i *K.pneumoniae*, 9'u *P.aeruginosa* ve 4'ü *A.baumannii* idi. Gram pozitif izolatların 45'i *S.aureus*, 8'i *E.faecalis* ve 4'ü *E.faecium*'du.
3. Yapılan hızlı tanımlama yöntemi sonuçları rutin tanımlama yöntemiyle karşılaştırıldığında; izolatların %58,8'i tür düzeyinde, %97,3'ü cins düzeyinde başarılı bir şekilde tanımlandı.
4. Hızlı tanımlama yönteminde gram negatif bakteriler için %78,1 tür düzeyinde, %100 cins düzeyinde; gram pozitif bakteriler için %26,3 tür düzeyinde, %93 cins düzeyinde tanımlama başarısı elde edildi.
5. Yapılan hızlı antibiyotik duyarlılık testlerinde, okunabilen zon sayısının inkübasyon süresi arttıkça arttığı bulundu. Teknik belirsizlik alanında (ATU) kalan sonuçların ise inkübasyon süresi arttıkça azaldığı bulundu.
6. *E.coli* izolatlarının (s=52) HADT sonuçlarına bakıldığında kategorik uyum 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %93,2 %95,3 ve %95,0 olarak bulundu. *E.coli*

izolatlarında en fazla teknik belirsizlik alanında (ATU) kalan ve ÇBH nedeni olan antibiyotik, amoksisilin klavulanik asit oldu. *E.coli* izolatlarında test edilen antibiyotiklerden; amikasin, seftazidim avibaktam, imipenem ve meropenemin her üç inkübasyon saatinde de kategorik uyumu %100 bulundu. Kategorik uyumu en düşük antibiyotiğin ise tüm inkübasyon saatlerinde de amoksisilin klavulanik asit olduğu tespit edildi.

7. *K.pneumoniae* izolatlarının (s=31) HADT sonuçlarına bakıldığında kategorik uyum 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %96,6 %97,0 ve %96,7 olarak bulundu. *K.pneumoniae* izolatlarında en fazla teknik belirsizlik alanında (ATU) kalan antibiyotik, imipenem ve en fazla çok büyük hata nedeni olarak bulunan antibiyotik ise trimetoprim sulfametoksazol oldu. *K.pneumoniae* izolatlarında test edilen antibiyotiklerden; seftazidim, siprofloksasin, gentamisin, levofloksasin ve tobramisin her üç inkübasyon saatinde de kategorik uyumu %100 bulundu. Kategorik uyumu en düşük antibiyotiğin ise tüm inkübasyon saatlerinde de trimetoprim sulfametoksazol olduğu tespit edildi.
8. *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatları birlikte değerlendirildiğinde; tüm antibiyotikler içinde her üç inkübasyon saatinde amikasin ve meropeneme ait ÇBH oranı her iki antibiyotik için de %0, BH oranı sırasıyla %1,3 ve %1,7 ve KH oranı sırasıyla %0 ve %2,4 (4. Saatte %0, 6 ve 8. Saatlerde %2,4) bulundu. İnkübasyonun 6. saatinden itibaren siprofloksasin, seftazidim avibaktam ve piperasilin tazobaktama ait ÇBH ve BH oranı her üçünde de %0, KH oranı sırasıyla %2,4, %0 ve %0 bulunarak bu antibiyotiklerin FDA kriterlerine göre uygulanabilir olduğu tespit edildi. FDA kriterlerine uymayan antibiyotiklerin; ampisilin, amoksisilin klavulanik asit, seftazidim, gentamisin, sefotaksim, imipenem, levofloksasin, trimetoprim sulfametoksazol ve tobramisin olduğu görüldü.
9. *Paeruginosa* izolatlarının (s=9) HADT sonuçlarına bakıldığında kategorik uyum 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %92,5 ve %95,4 olarak bulundu. *Paeruginosa* izolatlarında en fazla teknik belirsizlik alanında (ATU) kalan antibiyotikler, piperasilin tazobaktam ve sefepim oldu. *Paeruginosa* izolatlarında test edilen antibiyotiklerden; amikasin, siprofloksasin, seftazidim avibaktam, imipenem, levofloksasin, meropenem ve tobramisin her üç inkübasyon saatinde de

kategorik uyumu %100 bulundu. Kategorik uyumu en düşük antibiyotiğin ise tüm inkübasyon saatlerinde de seftazidim olduğu tespit edildi.

10. *A.baumannii* izolatlarının (s=4) HADT sonuçlarına bakıldığında kategorik uyum 4. 6. ve 8. Saatlerin her birinde %100 olarak bulundu. *A.baumannii* izolatlarında teknik belirsizlik alanında (ATU) kalan antibiyotik tespit edilmedi.
11. *S.aureus* izolatlarının (s=45) HADT sonuçlarına bakıldığında kategorik uyum 4. 6. ve 8. saatlerin her birinde %100 olarak bulundu. *S.aureus* izolatlarında en fazla teknik belirsizlik alanında (ATU) kalan antibiyotik, sefoksitin oldu.
12. *E.faecalis* izolatlarının (s=8) HADT sonuçlarına bakıldığında kategorik uyum 4. 6. ve 8. saatlerin her birinde %100 olarak bulundu. *E.faecalis* izolatlarında en fazla teknik belirsizlik alanında (ATU) kalan antibiyotik, vankomisin oldu.
13. *E.faecium* izolatlarının (s=4) HADT sonuçlarına bakıldığında kategorik uyum 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %100,0 %81,8 ve %83,3 olarak bulundu. *E.faecium* izolatlarında en fazla teknik belirsizlik alanında (ATU) kalan antibiyotik, vankomisin oldu.
14. *S.aureus* izolatlarının test edilen antibiyotiklere karşı direnç oranlarının az olması dolayısıyla hata oranları hesaplanmadı. *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *E.faecalis* ve *E.faecium* izolatlarının sayısı az olduğu için hata oranları hesaplanmadı.
15. HADT yöntemi GSBL tarama sınır değerleri kullanılarak 47 GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının 45'i pozitif olarak bulundu.
16. Çalışmamızda EUCAST HADT yönergesinde sonuç değeri bulunmayan. *E.coli*-ertapenem için zon oluşturmayan izolatlar disk difüzyon testinde dirençli bulundu. Disk difüzyon testinde duyarlı izolatlar içinde ölçülen en düşük zon çapları 8. saatte 18 mm'ydı. *E.coli*-seftriakson için zon oluşturmayan izolatlar disk difüzyon testinde dirençli bulundu. Disk difüzyon testinde dirençli olan izolatlar içinde en yüksek zon çapı 8. saatte 16 mm ölçüldü. *K.pneumoniae*-ampisilin için disk difüzyon testinde dirençli izolatlar içinde en yüksek zon çapı 8. saatlerde 15 mm olarak ölçüldü. *K.pneumoniae*-ertapenem için disk difüzyon testinde dirençli izolatlar içinde en yüksek zon

apı 8. saatte 16 mm olarak ölçüldü. *K.pneumoniae*-seftriakson disk difüzyon testinde dirençli izolatlar içinde en yüksek zon çapı 8. saatte 15 mm olarak ölçüldü.

Sonuç olarak çalışmamızda uyguladığımız hızlı tanımlama yönteminin kan ve diğer vücut sıvılarında üreyen bakterileri tanımlayarak hızlı tanıya yardımcı olabileceği gösterildi. Standart testle karşılaştırılması yapılabilen türlere ait HADT sonuçlarında bazı antibiyotikler/bakteri türleri için HADT yönteminin uygulanabilir olduğu, bazı antibiyotiklere ait BH oranlarının yüksek bulunması nedeniyle testin daha fazla örnekle çalışılarak rutin laboratuvar için geliştirilmesi sonucuna varıldı.



7. KAYNAKLAR

1. Davis, L.E., Acute bacterial meningitis. CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology, 2018. **24**(5): p. 1264-1283.
2. Elsisy, J.G., et al., Bacterial septic arthritis of the adult native knee joint: a review. JBJS reviews, 2020. **8**(1): p. e0059.
3. Kumar, A., et al., Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. Critical care medicine, 2006. **34**(6): p. 1589-1596.
4. Arulkumaran, N., et al., Antimicrobial-associated harm in critical care: a narrative review. Intensive care medicine, 2020. **46**: p. 225-235.
5. Dingle, T.C. and S.M. Butler-Wu, MALDI-TOF mass spectrometry for microorganism identification. Clinics in laboratory medicine, 2013. **33**(3): p. 589-609.
6. Åkerlund, A., et al., EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) in blood cultures: validation in 55 European laboratories. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2020. **75**(11): p. 3230-3238.
7. Martin, E.C., et al., Impact of EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) on management of Gram-negative bloodstream infection. Infectious Diseases Now, 2022. **52**(8): p. 421-425.
8. Tayşi, M.R., et al., Implementation of the EUCAST rapid antimicrobial susceptibility test (RAST) directly from positive blood culture bottles without the advanced identification systems. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2022. **77**(4): p. 1020-1026.
9. Erdoğan, G., et al., Pozitif Sinyal Veren Kan Kültürü Şişelerinde EUCAST Doğrudan Hızlı Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Yönteminin Değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul, 2021. **55**(4): p. 626-634.
10. Grif, K., et al., Improvement of detection of bacterial pathogens in normally sterile body sites with a focus on orthopedic samples by use of a commercial 16S rRNA broad-range PCR and sequence analysis. Journal of clinical microbiology, 2012. **50**(7): p. 2250-2254.
11. Ercan, M., Kan Fizyolojisi. 2016.
12. Marcos, M., et al., Changing epidemiology of central venous catheter-related bloodstream infections: increasing prevalence of Gram-negative pathogens. Journal of antimicrobial chemotherapy, 2011. **66**(9): p. 2119-2125.
13. Esen, B., N. Albayrak, and H. Alışkan, Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları İçin Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberi. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği Yayınları, 2015.
14. Muñoz, P., et al., Gram-negative bloodstream infections. International journal of antimicrobial agents, 2008. **32**: p. S10-S14.
15. Şirin, F.B. and M.C. Şirin, Kan Dolaşımı Enfeksiyonlarının Erken Tanısında İnflamatuvar Belirteçlerin Değerlendirilmesi. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi, 2021. **28**(2): p. 291-299.
16. Bryan, C.S., Clinical implications of positive blood cultures. Clinical microbiology reviews, 1989. **2**(4): p. 329-353.
17. Örnekleri, K.D., Klinik örnekten sonuç raporuna uygulama rehberi. 2009, Klimud.
18. Başustaoğlu, A., Kan kültürü uygulama kılavuzu.
19. Çiçek, A., Ç. Kuzucu, and B. Durmaz, Kan kültür sonuçlarının değerlendirilmesinde etkili olan faktörler. Journal of Turgut Ozal Medical Center, 2005. **12**(4): p. 277-280.
20. Scheer, C., et al., Impact of antibiotic administration on blood culture positivity at the beginning of sepsis: a prospective clinical cohort study. Clinical Microbiology and Infection, 2019. **25**(3): p. 326-331.

21. Mercat, A., et al., Chlorhexidine Compared with Povidone-Iodine as Skin Preparation before Blood Culture. *Ann Intern Med*, 1999. **131**: p. 834-837.
22. Standartları, U.M., Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. TC Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ankara, 2014.
23. Sakka, L., G. Coll, and J. Chazal, Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *European annals of otorhinolaryngology, head and neck diseases*, 2011. **128**(6): p. 309-316.
24. Silva, W.A.d., et al., Epidemiological profile of acute bacterial meningitis in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2010. **43**: p. 455-457.
25. Ross, K., Bacterial menengitis. *Central Nervous System Infectious Disease and Therapy*. New York: Marcel Dekker Inc, 1997: p. 99-126.
26. Pehlivanoglu, F., K.K. Yaşar, and G. Şengöz, Beyin omurilik sivisindan izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklari. *Ankem Derg*, 2011. **25**(1): p. 1-5.
27. McGill, F., et al., Acute bacterial meningitis in adults. *The Lancet*, 2016. **388**(10063): p. 3036-3047.
28. Kocagözoğlu, S.G. and A.Ö. Parlakay, Çocuklarda Akut Bakteriyel Menenjitlere Güncel Yaklaşım. *Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi*, 2021. **15**(5): p. 437-446.
29. Sahn, S.A., The pleura1. *Am Rev Respir Dis*, 1988. **138**: p. 184-234.
30. Light, R.W., et al., Parapneumonic effusions. *The American journal of medicine*, 1980. **69**(4): p. 507-512.
31. Ferreiro, L., et al., Management of pleural infections. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 2018. **12**(6): p. 521-535.
32. Jany, B. and T. Welte, Pleural effusion in adults—etiology, diagnosis, and treatment. *Deutsches Ärzteblatt International*, 2019. **116**(21): p. 377.
33. García-Arias, M., A. Balsa, and E.M. Mola, Septic arthritis. *Best practice & research Clinical rheumatology*, 2011. **25**(3): p. 407-421.
34. Levison, M.E. and L.M. Bush, Peritonitis and intraperitoneal abscesses, in Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 2015, Elsevier. p. 935-959. e4.
35. Sundaram, V., V. Manne, and A.M. Al-Osaimi, Ascites and spontaneous bacterial peritonitis: recommendations from two United States centers. *Saudi Journal of Gastroenterology*, 2014. **20**(5): p. 279-287.
36. Lu, M.L.R., et al., Infected ascites: Distinguishing secondary peritonitis from spontaneous bacterial peritonitis in a cirrhotic patient with classic symptoms. *IDCases*, 2017. **8**: p. 29-31.
37. Brannigan, E., P. Wong, and D. Leaper, Abdominal and other surgical infections, in *Antibiotic and Chemotherapy*. 2010, Elsevier. p. 483-501.
38. Davies, S.J. and J.D. Williams, Complications of peritoneal dialysis, in *Comprehensive clinical nephrology*. 2010, Elsevier. p. 1092-1101.
39. Ferreira, L., et al., Microorganisms direct identification from blood culture by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Microbiology and Infection*, 2011. **17**(4): p. 546-551.
40. Clemente, P.G., et al., Optimized identification of microorganisms directly from positive blood cultures by MALDI-TOF to improve antimicrobial treatment. *Revista Española de Quimioterapia*, 2022. **35**(4): p. 362.
41. Simon, L., et al., Direct identification of 80 percent of bacteria from blood culture bottles by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry using a 10-minute extraction protocol. *Journal of Clinical Microbiology*, 2019. **57**(2): p. 10.1128/jcm. 01278-18.
42. Tsuchida, S., et al., An in-house centrifugation and membrane filtration technique for identifying microorganisms from positive blood culture bottles with high

- identification rates using matrix-assisted laser desorption ionization–Time-of-flight mass spectrometry: A preliminary report. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2020. **26**(3): p. 266-271.
43. Gülaydın, Ö., et al., Comparison of Some Bacterial Identification Methods. *Turkish Journal of Veterinary Research*, 2019. **3**(1): p. 9-12.
 44. Funke, G. and P. Funke-Kissling, Performance of the new VITEK 2 GP card for identification of medically relevant gram-positive cocci in a routine clinical laboratory. *Journal of clinical microbiology*, 2005. **43**(1): p. 84-88.
 45. Dubois, D., et al., Performances of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry system for rapid identification of bacteria in routine clinical microbiology. *Journal of clinical microbiology*, 2012. **50**(8): p. 2568-2576.
 46. Matuschek, E., D.F. Brown, and G. Kahlmeter, Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical microbiology and infection*, 2014. **20**(4): p. O255-O266.
 47. Demirpek, U., Antimikrobiyal duyarlılık testleri. *Klinik Dergisi*, 2012. **49**: p. 107-112.
 48. Huh, H.J., et al., Performance evaluation of the QMAC-dRAST for staphylococci and enterococci isolated from blood culture: a comparative study of performance with the VITEK-2 system. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2018. **73**(5): p. 1267-1271.
 49. Hombach, M., R. Zbinden, and E.C. Böttger, Standardisation of disk diffusion results for antibiotic susceptibility testing using the sirscan automated zone reader. *BMC microbiology*, 2013. **13**: p. 1-8.
 50. Huemer, M., et al., Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO reports*, 2020. **21**(12): p. e51034.
 51. Banerjee, R. and R. Humphries, Rapid antimicrobial susceptibility testing methods for blood cultures and their clinical impact. *Frontiers in medicine*, 2021. **8**: p. 635831.
 52. Giske, C.G., et al., EUCAST Klinik ve/veya epidemiyolojik önemi olan direnç mekanizmaları ve direnç özelliklerini saptama kılavuzu V 1.0 (Temmuz 2013).
 53. Leli, C., et al., Rapid identification of bacterial and fungal pathogens from positive blood cultures by MALDI-TOF MS. *International Journal of Medical Microbiology*, 2013. **303**(4): p. 205-209.
 54. Süzük Yıldız, S., et al., In-House” Tween 80 Yöntemi ile Pozitif Kan Kültürlerinden Mikroorganizmaların MALDI-TOF MS Yöntemi ile Doğrudan Tanımlanması: Deneyisel ve Klinik Çalışma. *Mikrobiyol Bul*, 2020. **54**(4): p. 523-534.
 55. Health, U.D.o. and H. Services, Antimicrobial Susceptibility Test (AST) Systems—Class II Special Controls Guidance for Industry and FDA. 2009.
 56. Hattori, H., et al., Epidemiology and risk factors for mortality in bloodstream infections: A single-center retrospective study in Japan. *American journal of infection control*, 2018. **46**(12): p. e75-e79.
 57. Seymour, C.W., et al., Time to treatment and mortality during mandated emergency care for sepsis. *New England Journal of Medicine*, 2017. **376**(23): p. 2235-2244.
 58. Müderris, T., et al., Kan kültürlerinde izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal duyarlılık paternlerinin son beş yıldaki değişimi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2019. **76**(3): p. 231-42.
 59. Tsuchida, S., H. Umemura, and T. Nakayama, Current status of matrix-assisted laser desorption/ionization–time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical diagnostic microbiology. *Molecules*, 2020. **25**(20): p. 4775.
 60. Lin, J.-F., et al., A simple method for rapid microbial identification from positive monomicrobial blood culture bottles through matrix-assisted laser desorption

- ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of microbiology, immunology and infection*, 2018. **51**(5): p. 659-665.
61. Kuo, F.-C., et al., Rapid diagnosis of periprosthetic joint infection from synovial fluid in blood culture bottles by direct matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *PloS one*, 2020. **15**(9): p. e0239290.
 62. Monteiro, J., et al., Fast and reliable bacterial identification direct from positive blood culture using a new TFA sample preparation protocol and the Vitek® MS system. *Journal of microbiological methods*, 2015. **109**: p. 157-159.
 63. Faron, M.L., B.W. Buchan, and N.A. Ledebøer, Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry for use with positive blood cultures: methodology, performance, and optimization. *Journal of Clinical Microbiology*, 2017. **55**(12): p. 3328-3338.
 64. Çubuk, F. and M. Hasbek, MALDI-TOF MS İle Pozitif Kan Kültürü Şişelerinden Hızlı Bakteri Tanımlanması; Kan Dışı Steril Vücut Sıvıları İçin Tween 80 İle Ön Ekstraksiyon İşlemi Yarar Sağlar Mı? 2024.
 65. Chen, J.H., et al., Direct bacterial identification in positive blood cultures by use of two commercial matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry systems. *Journal of clinical microbiology*, 2013. **51**(6): p. 1733-1739.
 66. Tanner, H., et al., Evaluation of three sample preparation methods for the direct identification of bacteria in positive blood cultures by MALDI-TOF. *BMC research notes*, 2017. **10**: p. 1-8.
 67. Seifert, H., The clinical importance of microbiological findings in the diagnosis and management of bloodstream infections. *Clinical Infectious Diseases*, 2009. **48**(Supplement_4): p. S238-S245.
 68. Jasuja, J.K., S. Zimmermann, and I. Burckhardt, Applicability and performance of EUCAST's rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) on primarily sterile body fluids in blood culture bottles in laboratory routine with total lab automation. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2021. **40**: p. 1217-1225.
 69. Martins, A., et al., Rapid antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae by disk diffusion directly from blood culture bottles using the EUCAST RAST breakpoints. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2020. **22**: p. 637-642.
 70. Berinson, B., et al., EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST): analytical performance and impact on patient management. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2021. **76**(5): p. 1332-1338.

ÖZGEÇMİŞ

