



T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA BİLKENT ŞEHİR HASTANESİ
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ KLİNİĞİ

YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN EŞ ZAMANLI ALINAN
KAN ÖRNEKLERİNDE SENDROMİK SEPSİS PANELİ VE
RUTİN KAN KÜLTÜR SONUÇLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ: SENDROMİK SEPSİS PANELİNİN
HASTA YÖNETİMİNE KATKISI

Dr. Sevim Gayenur Büyükberber

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANKARA/2024



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA BİL KENT ŞEHİR HASTANESİ
SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ KLİNİĞİ

YOğUN BAKIM HASTALARINDAN Eē ZAMANLI ALINAN
KAN ÖRNEKLERİNDE SENDROMİK SEPSİS PANELİ VE
RUTİN KAN KÜLTÜR SONUÇLARININ
DEğERLENDİRİLMESİ: SENDROMİK SEPSİS PANELİNİN
HASTA YÖNETİMİNE KATKISI

Dr. Sevim Gayenur Büyükberber

Danışman: Doç. Dr. Sibel Aydoğan
(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANKARA/2024

TEŞEKKÜR

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim boyunca, bilgi ve tecrübeleriyle bana her daim yol gösteren, her sorunumda desteğini esirgemeyen, eğitim ve idari sorumlum **Prof. Dr. Bedia Dinç**'e en derin şükranlarımı sunarım.

Tezimin planlanmasından sonuçlanmasına kadar her aşamada katkı sağlayan, akademik bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli tez danışmanım **Doç. Dr. Sibel Aydoğan**'a sonsuz teşekkür ederim. Bu süreçte gösterdiği ilgi ve rehberlik benim için çok değerliydi.

Uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde emeği geçen tüm hocalarıma, değerli uzman ağabeylerime ve ablalarım, ayrıca mikrobiyoloji laboratuvarında birlikte çalıştığım tüm mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Sevgili asistan arkadaşlarıma da en içten teşekkürlerimi sunmak isterim. Mesleki yaşantımızda gösterdiğimiz uyum ve iş birliğinin yanı sıra, iş dışında da her zaman yan yana, aynı dayanışma ruhuyla hareket ettik. Kurduğumuz dostluklar, bu yolculuğu hem daha anlamlı kıldı hem de keyifli hale getirdi.

Son olarak, hayatımın her anında sevgileriyle bana güç veren, her zaman yanımda olan canım aileme; sevgili annem **Nuray Büyükberber**, babam **Süleyman Büyükberber** ve kıymetli kardeşlerim **Alperen, Ahmet ve Ömer**'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Sizlerin varlığı ve desteği, her zaman en büyük dayanağım oldu. Bana verdiğiniz güven, her zorluğun üstesinden gelmemde bana güç kattı. Sizler olmadan bu yolda ilerlemem mümkün olmazdı.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR	v
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. SEPSİSİN TARİHÇESİ	3
2.2. TANIMLAR	4
2.3. SEPSİS TANISINDA KULLANILAN SKORLAMA SİSTEMLERİ	5
2.3.1. SOFA Skoru.....	5
2.3.2. Hızlı SOFA (Quick SOFA, qSOFA) Skoru	6
2.3.3. EWS (Early Warning Score-Erken Uyarı Skoru) ve MEWS Skoru (Modified Early Warning Score-Modifiye Erken Uyarı Skoru).....	7
2.3.4. NEWS Skoru (National Early Warning Score-Ulusal Erken Uyarı Skoru).....	7
2.3.5. APACHE Skoru (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score- Akut Fizyolojik ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi Skoru).....	8
2.3.6. LOD skoru (Logistic Organ Dysfunction Score)	8
2.4. SEPSİS BİYOBELİRTEÇLERİ.....	8
2.4.1. Prokalsitonin (PCT)	8
2.4.2. C- Reaktif Protein (CRP)	9
2.4.3. İnterlökin-6 (IL-6).....	9
2.4.4. Eritrosit Sedimantasyon Hızı (ESH)	9
2.4.5. Serum Laktat Düzeyi	10
2.4.6. Pentraksin 3 (PTX 3).....	10
2.4.7. Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 (TREM-1/sTREM- 1(soluble)	10
2.4.8. Presepsin (sCD14).....	10

2.4.9. Nötrofil CD64	11
2.4.10. Endokan (Endothelial cell specific molecule-1, Endotelial hücre özgül molekül 1, ESM-1).....	11
2.4.11. Pro-adrenomedullin.....	11
2.1. SEPSİS TANISI.....	12
2.2. SEPSİS TANI YÖNTEMLERİ.....	12
2.2.1. Standart Kan Kültürü Laboratuvar Yönetimi.....	12
2.2.1.1. Set Kavramı ve Örneklerin Alınması- Preanalitik Süreç	12
2.2.2. Kan Kültürü İnkübasyon Yöntemleri.....	14
2.2.2.1. Kan Kültürünün Manuel Sistemler ile İnkübasyonu.....	14
2.2.2.2. Kan Kültür Şişelerinin Otomatize Sistemler ile İnkübasyonu	15
2.2.3. Pozitif Kan Kültürü Şişelerinin Analizi	16
2.2.3.1. Gram Boyama ve Katı Besiyeri Ekimleri	16
2.2.4. Bakteri Tanımlama Yöntemleri.....	17
2.2.4.1. Konvansiyonel Yöntemler	17
2.2.4.2. Otomatize Sistemler	17
2.2.4.3. Kütle Spektrometrisine Dayalı Yöntemler.....	18
2.2.4.4. Kan Kültüründe Moleküler Yöntemler	19
i. Hibridizasyona dayalı yöntemler	19
ii. Amplifikasyona dayalı yöntemler	20
2.3. SEPSİS ETKENİ MİKROORGANİZMALAR	23
2.4. SEPSİS RİSK FAKTÖRLERİ VE KLİNİK BULGULARI	24
2.4.1. Sepsis Risk Faktörleri	24
2.4.2. Sepsis Klinik Bulguları	25
2.5. SEPSİS TEDAVİ VE TAKİBİ.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN NUMUNELER	27
3.2. VERİ TOPLAMADA UYGULANAN YÖNTEMLER	27
3.3. ÖRNEK TOPLAMADA UYGULANAN YÖNTEMLER.....	28
3.4. MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI RUTİN KAN KÜLTÜRÜ TANIMLAMA YÖNTEMLERİ.....	28
3.5. SENDROMİK SEPSİS PANELİ İLE TANIMLAMA	29

3.5.1. Nükleik Asit Ekstraksiyonu	29
3.5.2. Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Paneli ile PZR Reaksiyonun Kurulması.....	32
3.5.3. Sonuçların Değerlendirilmesi	34
3.5.4. İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	38
4.1. Çalışma Popülasyonu.....	38
4.2. Laboratuvar Bulguları	39
4.2.1. Kan Kültürü Sonuçları	39
4.2.2. Sepsis Panel Sonuçları	43
4.2.2.1. Tam kan- Sepsis panel	44
4.2.2.2. Kan kültürü- Sepsis panel	46
4.2.3. Antibiyotik Direnç Sonuçları	51
4.2.4. Sonuç Verme Süreleri	54
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇLAR	66
7. KAYNAKLAR	68
EKLER.....	82

KISALTMALAR

ACCP: American College of Chest Physicians

APACHE Skoru: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score- Akut Fizyolojik ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi Skoru

ARDS: Akut respiratuvar distres sendromu

CD: Cluster of Differentiation

CHCA: a-siyano-4- hidroksisinamik asit

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute- Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü

Cq: Threshold döngü sayısı

CRP: C- Reaktif Protein

ESH: Eritrosit Sedimantasyon Hızı

ESI-MS: Electrospray Ionization Mass Spectrometry

ESICM: The European Society of Intensive Care Medicine

EWS: Early Warning Score- Erken Uyarı Skoru

FDA: Food and Drug Administration- Gıda ve İlaç Dairesi

FISH: Floresan in situ hibridizasyon

GKS: Glaskow koma skoru

GSBL: Geniş spektrumlu β -laktamaz

GZ PZR: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

IC: İnternal Kontrol

IL-6: İnterlökin-6

IMP: İmipenemaz Metallo-beta-laktamaz

KLİMUD: Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği

KNS: Koagülaz negatif stafilokoklar

KPC: *Klebsiella pneumoniae* karbapenemazları

LOD skoru: Logistic Organ Dysfunction Score

LPB: LPS bağlayıcı proteinler

LPS: Lipopolisakkaritler

MDR-ÇİD: Çoklu ilaç direnci

MEWS: Modified Early Warning Score- Modifiye Erken Uyarı Skoru

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon

MODS: Multiple Organ Dysfunction Syndrome- Çoklu Organ Yetmezliği Sendromu
NDM: New Delhi Metallo-beta-laktamaz
NEWS: National Early Warning Score – Ulusal Erken Uyarı Skoru
NHS: National Health Service
NPD: Negatif prediktif değer
NTC: Negatif Kontrol
OAB: Ortalama arter basıncı
OXA-48: Oksasilinaz-48
PaCO₂: Arteriyel karbondioksit basıncı
PC: Pozitif Kontrol
PCT: Prokalsitonin
PPD: Pozitif prediktif değer
PTX 3: Pentraksin 3
PYR: L-pirolidonil β -naftilamid
qSOFA: Quick SOFA
RFU: Relative Fluorescence Unit
rRNA: Ribozomal RNA
SCCM: Society of Critical Care Medicine
SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome - Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu
SOFA: Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessment
SPSS: Statistical Package for Social Sciences
SSCP: Tek iplikçik konformasyon polimorfizmi
T-RFLP: Terminal restriksiyon-fragment uzunluk polimorfizmi
TOF: Dedektöre ulaşmak için gereken uçuş süresi
TREM-1/sTREM-1: (soluble)Triggering receptor expressed on myeloid cells-1
TTP: Time to positivity
VIM: Verona İntegron-Kodlu Metallo-beta-laktamaz
VRE: Vankomisin dirençli enterokok
WHO: Dünya Sağlık Örgütü
YBÜ: Yoğun bakım ünitesi

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. SOFA Kriterleri	6
Tablo 2. qSOFA Skoru.....	7
Tablo 3. Otamatize Kan Kültür Sistemleri ve Kullanılan Kan Kültür Ő��eleri (4)	15
Tablo 4. Sepsis Tanısında Kullanılan Ticari Sistemler (62)	22
Tablo 5. Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Panel Kit İçeriği	30
Tablo 6. Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Panel Strip Kuyu İçeriği.....	30
Tablo 7. Reaksiyon Kurulum İçeriği.....	33
Tablo 8. GZ-PZR Isı Döngü Protokolü.....	33
Tablo 9. Bio-Speedy® Sepsis qPCR MX-30S panel hedefleri.....	34
Tablo 10. Test Sonuçlarının Yorumlanması	35
Tablo 11. Kit Kontrollerinin Beklenen Performansı.....	35
Tablo 12. Hastaların ya� aralıklarına göre dağılımı	38
Tablo 13. Altta yatan enfeksiyon kaynakları	38
Tablo 14. Sepsis parametreleri sınır değerleri ve hastaların dağılımı (n=155).....	39
Tablo 15. Kan kültürü Ő��elerinden yapılan Gram boyama sonuçları	40
Tablo 16. Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların dağılımı (Aerob 1).....	41
Tablo 17. Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların dağılımı (Aerob 2).....	42
Tablo 18. Kan kültüründe üreyen KNS izolatlarının dağılımı	42
Tablo 19. Kan kültürü Ő��elerindeki polimikrobiyal üreme durumu.....	43
Tablo 20. Tam kandan yapılan sepsis paneli ile elde edilen etken dağılımı	44
Tablo 21. Tam kan ile kan kültürü-sepsis panel yöntemlerinin etkenleri saptama yönünden karşılaştırılması	45
Tablo 22. Tam kandan yapılan sepsis paneli ile tespit edilen direnç genlerinin dağılımı	45
Tablo 23. Tam kan-Sepsis panel direnç geni ve kan kültürü antibiyogram direnç sonuçlarının karşılaştırılması (Antimikrobiyal direnç saptanmasında VITEK-2 ile sepsis panel sonuçlarının karşılaştırılması).....	46
Tablo 24. Kan kültürü ve kan kültürü-sendromik sepsis paneli ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması-1	47

Tablo 25. Kan kültürü ve kan kültürü-sendromik sepsis paneli ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması -2	48
Tablo 26. Kan kültürü ve kan kültürü-sendromik sepsis paneli ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması-3	48
Tablo 27. Etken bazında kan kültürü- kan kültürü sepsis panel yöntemlerinin karşılaştırılması; duyarlılık ve özgüllük değerleri.....	49
Tablo 28. Rutin kan kültürü tanımlama ile uyumsuz panel sonuçları	50
Tablo 29. Gram negatif izolatlarda antimikrobiyal direnç durumu	51
Tablo 30. Gram pozitif izolatlarda antimikrobiyal direnç durumu	53



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Sepsis Tanı Yöntemleri Algoritması.....	21
Şekil 2. Pozitif sepsis panel sonucu	54
Şekil 3. Negatif sepsis panel sonucu- İnternal kontrol eğrisi.....	54



ÖZET

Amaç: Sepsis, dünya çapında yüksek mortalite ve morbiditeye neden olan ciddi bir sağlık sorunudur. Bu çalışmada, yeni bir multipleks gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ PZR) esaslı sendromik sepsis panelinin patojen tanımlama etkinliğini, rutin yöntemler ve MALDI-TOF MS sistemi ile karşılaştırarak, ana antibiyotik direnç genlerinin varlığı ile izolatların antibiyotik duyarlılık paternlerini belirlemek amaçlanmıştır. Ayrıca sendromik sepsis panel kullanımının hem tanımlama hem de antibiyotik direnç durumunun tespit süresine etkisinin belirlenmesi ile hasta yönetimine katkısı değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Yoğun bakım ünitesinde takip ve tedavi edilen sepsis ön tanılı, yatışı sırasında SOFA skorunda iki veya daha fazla artış olan 155 hastadan gönderilen 310 adet kan kültürü örneği ve eş zamanlı alınmış 155 adet tam kan örneği çalışmaya dahil edildi. Etken tanımlama, MALDI-TOF teknolojisine sahip VITEK® MS (bioMérieux, Fransa) ile yapıldı. Klinik olarak etken kabul edilen izolatların antibiyotik duyarlılık testleri VITEK® 2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistem ile çalışıldı. Rutin kan kültürü işleyişi devam ederken, bir yandan da pozitif sinyal veren şişeler, inkübasyon süresini dolduran şişeler ve tam kan örnekleri sendromik sepsis paneli ile çalışılmak üzere işleme alındı. Sepsis etkenlerinin ve antibiyotik direnç genlerinin analizi GZ PZR yöntemine dayanan Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Panel (Bioeksan, Türkiye) kiti kullanılarak CFX96 Touch Real-Time PCR (BIO-RAD, ABD) cihazında üretici firma önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar, tanımlama sonuçlarının ve tespit edilen direnç paternlerinin uyumu, sonuç verme süreleri açısından karşılaştırıldı.

Bulgular: Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S paneli ile tam kan örneklerinden çalışılan PZR testi ile %53, kan kültür şişelerinden çalışılan PZR testi ile %90 oranında kültürle uyumlu sonuçlar elde edildi. Tam kandan çalışılan örneklerde duyarlılık % 21,43, özgüllük % 80; kan kültürü şişesinden çalışılan örneklerde duyarlılık %88; özgüllük %93 olarak hesaplandı. Sepsis paneli ile çalışılan tam kan örneklerinden yedisinde direnç geni saptandı. Bunlardan dört tanesi (%57) antibiyotik duyarlılık sonuçları ile uyumluydu. Üç örnekte ise kültür ile uyumsuzluk olduğu için antibiyogram sonuçları açısından değerlendirme yapılamadı. Sepsis paneli ile çalışılan

kan kültürü örneklerinde ise VRE'lerin (n=4), MRSA'ların (n=1) ve MRKNS'lerin (n=17) tümünde dirence neden olan gen gösterildi. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının (n=11) sadece birinde direnç geni saptanamadı. Rutin işleyle patojenlerin tanımlama sürelerinin ortalaması 50-74 saat arasında bulunurken, antibiyogram sonuç verme süre ortalamaları 52-78 saat arasında bulundu. Sepsis paneli ile bu sürelerin 13-23 saate kadar kısaltılabildiği görüldü. Tüm bu faktörler göz önünde bulundurulduğunda, patojenleri ve direnç genlerini hızlı ve hassas bir şekilde tespit edebilen sendromik sepsis panellerinin, kan kültür analizinde kullanımının, özellikle kritik hasta grubunda hasta sağkalımı açısından faydalı bir yöntem olabileceği öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sepsis, sendromik sepsis paneli, kan kültürü, tam kan, PZR, direnç geni

ABSTRACT

Aim: Sepsis is a severe global health issue that leads to significant rates of death and illness. The objective of this study is to assess the effectiveness of a new multiplex real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) based syndromic sepsis panel in identifying pathogens. This will be performed by comparing it with standard methods and the MALDI-TOF MS system. Additionally, the study aims to identify the presence of important antibiotic resistance genes and determine the antibiotic susceptibility patterns of the isolates. Furthermore, the effects of applying the syndromic sepsis panel on patient care, identification, and antibiotic resistance status and detection time have been evaluated.

Materials and Methods: The study included 310 blood culture samples and 155 concurrent full blood samples from 155 patients who were initially diagnosed with sepsis and were admitted to the intensive care unit. These patients had an increase of two or more in their SOFA score at the time of admission. The VITEK® MS (bioMérieux, France), integrated with MALDI-TOF technology, was used for pathogen detection. The antibiotic susceptibility testing of the clinically acceptable isolates were performed using the VITEK® 2 (bioMérieux, France), automated system. During the ongoing standard blood culture processing, bottles that showed a positive signal, bottles that had finished their incubation period, and whole blood samples were subjected to analysis using the syndromic sepsis panel. The Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Panel (Bioeksan, Turkey) kit was used to analyze sepsis pathogens and antibiotic resistance genes. The analysis was conducted using the CFX96 Touch Real-Time PCR (BIO-RAD, USA) devices, following the manufacturer's instructions. The findings produced from both methods were compared in terms of the agreement in identification results, observed resistance patterns, and turnaround times.

Results: The PCR test performed on whole blood samples using the Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S panel revealed a 53% concordance with culture. However, the PCR test performed on blood culture bottles demonstrated a higher concordance of 90%. The sensitivity and specificity of the tests performed on whole blood samples were 21,43% and 80%, respectively. For samples collected from blood

culture bottles, the sensitivity was 88% and the specificity was 93%. Resistance genes were identified in seven out of the whole blood samples examined using the sepsis panel. Out of these, four (57%) matched the antibiotic susceptibility data. In three samples, the inability to establish concordance with the culture prevented the evaluation based on antibiogram results. The sepsis panel analysis of the blood culture samples confirmed the presence of resistance-causing genes in all cases of VREs (n=4), MRSA (n=1), and MRCNS (n=17). Out of the 11 isolates of carbapenem-resistant *K. pneumoniae*, only one didn't have a detectable resistance gene. In routine practice, the average duration for pathogen identification was determined to be between 50-74 hours, whereas the average duration for antibiotic susceptibility results was between 52-78 hours. The sepsis panel has the potential to decrease these durations to a range of 13-23 hours. Considering all of this, it is expected that using syndromic sepsis panels, which can quickly and efficiently identify pathogens and resistance genes, could be a promising approach for improving patient survival, particularly for critically ill patients, in the analysis of blood cultures.

Keywords: Sepsis, syndromic sepsis panel, blood culture, whole blood, PCR, resistance gene

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis tüm dünyada yüksek mortalite ve morbidite sebebidir. Sepsisin yıllık görülme sıklığı, son on yılda %5 ila %13 kadar artmıştır. Günümüzde bağırsak ve meme kanserinin her ikisinin neden olduğundan daha fazla ölüme neden olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2020 yılında yayımlanan raporuna göre, 2017 yılında dünya genelinde yaklaşık 48.9 milyon sepsis vakası ve 11 milyon sepsis kaynaklı ölüm gerçekleşmiştir, bu da global ölümlerin %20'sine denk gelmektedir. Bu veriler, sepsisin ciddi bir küresel sağlık sorunu olduğunu göstermektedir (1, 2). Yapılan çalışmalarda sepsis düşünüldüğü andan itibaren antibiyotik tedavisindeki her bir saatlik gecikmenin mortaliteyi %9 oranında artırdığı gösterilmiştir (3). Sepsisin mikrobiyolojik tanısında, (sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ile sepsis ayrımı için) etkenin belirlendiği kan kültürleri anahtar role sahiptir. Sepsiste, tanı ve antimikrobiyal tedavinin uygun şekilde yapılabilmesi için etkenin tanımlanması gereklidir. Tanıda kan kültürü altın standart olmakla birlikte hızlı tanı yönünden yetersiz kalmaktadır. Kan kültürü ile sonuç alınması için en az 48-72 saat; geç üreyen bakteriler, anaerop bakteriler ve mantarlar için daha uzun süreler gerekir. Pozitif sinyal alındığında üreme, tanımlama ve antibiyogram dahil raporlama en erken 36-48 saat içinde yapılabilirken, kültür negatif kararını verebilmek için en az beş gün beklemek gereklidir. Kan kültürünün bir diğer dezavantajı ise, özellikle antibiyotik alan hastalarda, tanısal duyarlılığının düşük olmasıdır (4, 5).

Son yıllarda dirençli bakterilerin yayılması nedeniyle ampirik tedavilerin etkinliği azalmıştır. Ayrıca ampirik tedavide uzamış geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı da antibiyotik direncine katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle kan kültür sonuçlarının en kısa zamanda sonuçlandırılması; hastalara hızlı bir şekilde etkili ve uygun antibiyotik tedavisi verilmesi, antibiyotik direncindeki artışın engellenmesi, antibiyotik kullanım süresi ve hastane yatış süresinin kısalmasını sağlayarak morbidite ve mortalite üzerine olumlu katkı sağlayacaktır (6, 7).

Sepsis rehberlerinde hali hazırda kan kültürü altın standart tanı yöntemi olarak kabul edilmekle beraber, kan kültürünün kısıtlılıklarını gidermek ve sepsisteki hızlı tanı ihtiyacını karşılamak üzere alternatif tanı yöntemleri geliştirilmeye devam etmektedir.

Bu çalışmada, yeni bir multipleks gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ PZR) esaslı sendromik sepsis panelinin (Bio-Speedy® Sepsis qPCR MX-30S panel) patojen tanımlama etkinliğini, rutin yöntemler ve MALDI-TOF MS sistemi ile karşılaştırarak, ana antibiyotik direnç genlerinin varlığı ile izolatların antibiyotik duyarlılık paternlerini belirlemek amaçlanmıştır. Ayrıca sendromik sepsis panel kullanımının hem tanımlama hem de antibiyotik direnç durumunun tespit süresine etkisinin belirlenmesi ile hasta yönetimine katkısı değerlendirilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. SEPSİSİN TARİHÇESİ

Sepsis ilk defa Homeros'un şiirinde "çürüme" anlamında kullanılmıştır. Hipokrat sepsisi, M.Ö. 400 civarında çürümüş dokuların yol açtığı yaralardaki iltihap olarak tanımlamıştır. Bu dönemde, enfeksiyonların kötü bir şekilde iyileşen yaralara bağlı olduğu biliniyordu. Galen ise, M.S. 129–199 tarihlerinde sepsisi yara iyileşmesi olarak tanımlamıştır. Pasteur, 19. yüzyıl başlarında mikroorganizmaların hastalıklara neden olma yeteneğini anlamak amacıyla birçok çalışma yapmıştır ve sepsisi, mikroorganizmaların konak invazyonu sonucu kan yoluyla yayılması ile sistemik bir enfeksiyonun ortaya çıkması olarak ifade etmiştir (8, 9). İlk kez modern sepsis tanımı 1914 yılında Hugo Schottmüller tarafından yapılmıştır. Schottmüller sepsisi, kan dolaşımına giren mikroorganizmaların neden olduğu bir hastalık tablosu olarak tanımlamıştır (10).

1991 yılında "American College of Chest Physicians (ACCP)" ve "Society of Critical Care Medicine (SCCM)" tarafından ortaklaşa yayımlanan sepsis tanımı zaman içinde yapılan güncellemelerle günümüze kadar gelmiştir. Yayımlanan ilk tanımda "Sepsis-1" tanımı, patojen mikroorganizmaların steril dokulara invazyonu sonucu gelişen inflamatuvar yanıt olarak yapılmıştır. Ateş, kalp atış hızında artış, solunum hızında artış gibi belirgin değişiklikler, bu inflamatuvar yanıtın klinik belirtileri arasında yer almaktadır. "Sepsis-1" tanımı, vücutta sistemik bir inflamatuvar yanıtın varlığını ve bu inflamatuvar yanıtın şiddetini değerlendirmek amacıyla SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome- Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu) kriterlerini kullanır (11-13).

Sepsisin en son tanımı 2016 yılında "The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)" adlı uluslararası konsensus toplantısında yapılmış ve 2021 yılında "Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock" 2021 kılavuzuyla en güncel halini almıştır (14, 15). "Sepsis-3" tanımı, önceki tanımları revize ederek sepsisi daha net bir şekilde tanımlamıştır. Bu tanımda, sepsis enfeksiyona bağlı organ disfonksiyonu olarak ifade edilmiştir ve "Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessment (SOFA)" skoru kullanılarak hastanın organ fonksiyonlarının

değerlendirilmesi esas alınmıştır. Sepsis tanısı, SOFA skorunun iki veya daha fazla artması olarak belirlenir. Ayrıca, bu toplantıda klinik ortamda hızlı bir şekilde sepsis riskini değerlendirmek amacıyla kullanılan “Quick SOFA (qSOFA)” kriterleri de tanımlamaya eklenmiştir (12, 16, 17). Bu tanımların evrimi sürekli olarak güncel tıbbi literatür ve bilimsel gelişmelerle birlikte şekillenmeye devam etmektedir.

2.2. TANIMLAR

Sepsis, 2016 yılında SCCM/ESICM sepsis grubu tarafından yapılan en son tanım; konağın enfeksiyona karşı verdiği düzensiz yanıtla ilgili olarak gelişen organ disfonksiyonu şeklindedir (16).

Enfeksiyon, patojen mikroorganizmaların (bakteri, virüs, mantar veya parazit) bir konak organizmada kolonize olması ve çoğalması sonucu ortaya çıkan bir durumdur.

Bakteriyemi, kan dolaşımında bakteri bulunması durumunu ifade eder. İnvazif bakteriyel bir durumun göstergesi olup, ciddi komplikasyonlara yol açabilen sepsis veya septik şokun öncüsü olabilir.

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS), çeşitli yaralanma ve hastalık durumlarına karşı vücudun gösterdiği genel inflamatuvar yanıtı tanımlayan bir klinik sendromdur. SIRS, enfeksiyöz bir ajanın varlığında veya yokluğunda ortaya çıkabilir. SIRS kriterleri şunlardır:

- Ateş veya Hipotermi: Vücut sıcaklığı $>38^{\circ}\text{C}$ veya $<36^{\circ}\text{C}$.
- Taşikardi: Kalp atım hızı >90 atım/dakika.
- Takipne veya Hiperventilasyon: Solunum hızı >20 solunum/dakika veya arteriyel karbondioksit basıncı (PaCO_2) <32 mmHg.
- Lökosit Sayısı: $>12,000/\text{mm}^3$, $<4,000/\text{mm}^3$ veya $\%10'$ dan fazla immatür (bant) nötrofil.

SIRS, vücudun aşırı inflamatuvar tepkisini yansıtan klinik bir sendromdur. Bu aşırı yanıt, enfeksiyon dışındaki birçok patolojik durumla tetiklenebilir. Özellikle otoimmün hastalıklar, akut pankreatit, vaskülitler, tromboembolik olaylar, ciddi yanıklar ve bazı cerrahi müdahaleler, enfeksiyöz olmayan nedenlerle SIRS'ın başlamasına neden olan faktörlerdir. Bu nedenle, sepsis tanısı için SIRS kriterlerinin tek başına kullanılması artık önerilmemektedir (11, 16).

Septik Şok, sepsisin ileri bir evresi olarak tanımlanabilir ve vücudun enfeksiyona yanıtının neden olduğu dolaşımsal, hücrel ve metabolik disfonksiyonlarla karakterizedir. Bu disfonksiyonlar, hastanın yaşamını tehdit edecek derecede derindir. Klinik tanı kriterleri arasında, ileri sıvı ve vazopressör tedavisine rağmen, refrakter hipotansiyon ve serum laktat düzeylerinin 2 mmol/L (18 mg/dl)'nin üzerinde olması yer alır (12).

Organ Disfonksiyonu, özellikle sepsis bağlamında organ disfonksiyonunu tanımlamak için SOFA skoru sıkça kullanılır. SOFA skoru, solunum, koagülasyon, karaciğer, kardiyovasküler, santral sinir sistemi ve böbrek işlevlerini değerlendirir. İki veya daha yüksek bir SOFA değeri disfonksiyonun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (18).

Çoklu Organ Yetmezliği Sendromu- MODS (Multiple Organ Dysfunction Syndrome), akut bir patolojik süreçle karakterize olan progresif organ disfonksiyonunu tanımlar. Bu durum enfeksiyöz nedenlere, örneğin sepsis ve septik şoka veya enfeksiyöz olmayan nedenlere, örneğin pankreatite bağlı gelişen SIRS gibi durumlara sekonder olarak ortaya çıkabilir. Çoklu organ yetmezliği sendromunun tanımlanmasında, spesifik organ disfonksiyonu için evrensel olarak kabul edilmiş kriterler bulunmamaktadır (5).

2.3. SEPSİS TANISINDA KULLANILAN SKORLAMA SİSTEMLERİ

2.3.1. SOFA Skoru

SOFA skoru, “SCCM/ESICM Sepsis İlgili Problemler Çalışma Grubu'nun” Versailles'da düzenlediği bir konsensus konferansında 1994 yılında geliştirildi ve 1996'da yayınlandı. Başlangıçta “‘Sepsis İlgili’ Organ Yetmezliği Değerlendirme” skoru olarak bilinse de ismi, sepsis olmayan kritik hastalardaki uygulama potansiyeli de göz önüne alınarak “‘Sıralı’ Organ Yetmezliği Değerlendirme” skoru olarak değiştirildi. SOFA skoru, hızla hem klinik uygulamada hem de bilimsel çalışmalarda sıkça kullanılan bir skora yöntemi haline geldi (18, 19).

Özellikle yoğun bakım ve acil kliniklerinde, hastaların organ disfonksiyonunun değerlendirilmesi için kullanılan bir skora sistemidir. Hastaların prognoz takibini değerlendirmek için de kullanılır. Skor; solunum, koagülasyon, karaciğer, kardiyovasküler, santral sinir sistemi ve böbrek olmak üzere altı farklı organ sistemini

değerlendirir. Her organ sistemi için belirli kriterler doğrultusunda 0'dan 4'e kadar puanlama yapılır, burada 0 en iyi durumu ve 4 en kötü durumu ifade eder (Tablo1). Toplam puan, hastanın genel durumunu ve organ yetmezliği derecesini gösterir; yüksek skor, artan organ disfonksiyonuna ve kötü prognoza işaret eder (16).

Tablo 1. SOFA Kriterleri

Puan	0	1	2	3	4
PaO₂/FiO₂, mmHg	≥400	<400	<300	<200 solunum desteği ile	<100 solunum desteği ile
Platelet sayısı, x10³/μL	≥ 150	<150	<100	<50	<20
Bilirubin, mg/dL	<1.2	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.9	>12.0
Kardiyovasküler	OAB ≥70 mm Hg	OAB <70 mm Hg	Dopamin <5 veya dobutamin (tüm dozlar)	Dopamin 5.1- 15 veya epinefrin ≤0.1 veya norepinefrin ≤0.1	Dopamin >15 veya epinefrin>0.1 veya norepinefrin >0.1
Glaskow koma skalası	15	13-14	10-12	6-9	<6
Kreatin, mg/dL	<1.2	1.2-1.9	2.0-3.4	3.5-4.9	>5.0
İdrar çıkışı, mL/gün				<500	<200

OAB:Ortalama arter basıncı

2.3.2. Hızlı SOFA (Quick SOFA, qSOFA) Skoru

Yoğun bakım üniteleri dışında, hastane dışı, acil servis ve genel hastane koşullarında yatak başı kullanılan hızlı SOFA skoru diğer skora sistemlerine göre daha başarılı ve kolay uygulanabilir bir skora sistemidir. Şüpheli enfeksiyonu olan hastalarda sepsis ilişkili prognozun belirlenmesinde kullanılır. Enfeksiyon şüphesinde qSOFA kriterlerinin iki veya daha yüksek olması sepsis şüphesini kuvvetlendirir

(Tablo 2). Bu durumda SOFA skoru değerlendirilmeli ve organ disfonksiyonu açısından hasta takip edilmelidir (16).

Tablo 2. qSOFA Skoru

Solunum sayısı ($\geq 22/\text{dk}$)	1 puan
Mental durum değişikliği (GKS<15)	1 puan
Sistolik kan basıncı (≤ 100 mmHg)	1 puan

Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA 2016;315(8):801-10'den uyarlanmıştır.

2.3.3. EWS (Early Warning Score-Erken Uyarı Skoru) ve MEWS Skoru (Modified Early Warning Score-Modifiye Erken Uyarı Skoru)

İlk olarak 1997'de Morgan ve ark. tarafından EWS skoru geliştirilmiştir (20, 21). 1999 yılında Stenhouse ve ark. tarafından modifiye edilerek günümüzde de yaygın olarak kullanılan MEWS halini almıştır. Akut hastalık risklerini sınıflayan bu skorlardan MEWS sepsis başta olmak üzere, yatışları sırasında istenmeyen klinik durumlara maruz kalan hastalarda morbidite ve mortalite göstergesi olarak kullanılmaktadır (22). Bu skorlama sistemi, hastanın solunum hızı, kalp atış hızı, kan basıncı, vücut sıcaklığı ve bilinç durumu gibi temel fizyolojik parametreleri kullanır (21).

2.3.4. NEWS Skoru (National Early Warning Score-Ulusal Erken Uyarı Skoru)

2012 yılında İngiltere'de National Health Service (NHS) tarafından geliştirilmiş, 2017 yılında NEWS2 olarak güncellenmiş bir skorlama sistemidir. Hastaların klinik durumunu değerlendirmek ve potansiyel klinik kötüleşmeleri erken tespit etmek amacıyla kullanılır. Altı temel fizyolojik parametreyi (solunum hızı, oksijen saturasyonu, kan basıncı, kalp hızı, vücut sıcaklığı, bilinç durumu) değerlendirir ve bu bulgulara dayanarak bir skorlama yapar (23).

2.3.5. APACHE Skoru (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score- Akut Fizyolojik ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi Skoru)

İlk olarak 1981’de Knaus ve ark. (24) tarafından tanımlanan APACHE skoru yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların hastalık şiddetini ve mortalite riskini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir skarlama sistemi olmuştur. Hesaplaması üç temel bileşenin bir araya getirilmesiyle yapılır: akut fizyolojik skor, hasta yaşı ve kronik sağlık durumu. Daha sonra APACHE II, III ve IV skorları geliştirilmiştir (25, 26).

2.3.6. LOD skoru (Logistic Organ Dysfunction Score)

Yoğun bakımlarda organ disfonksiyonunu ve morbiditeyi tahmin eden bir skarlama sistemidir. Kullanımı karmaşık olduğu için günümüzde çok tercih edilmemektedir. Ancak klinik araştırmalarda organ fonksiyonunu değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. LOD skoru, altı organ sistemini (nörolojik, kardiyovasküler, renal, pulmoner ve hepatik sistem) sıfır ile beş arasında puanlayarak değerlendirmektedir (27).

2.4. SEPSİS BİYOBELİRTEÇLERİ

Sepsis tanısında kullanılan biyobelirteçler, sistemik inflamasyonun enfeksiyöz nedenlerini diğer inflamatuvar durumlardan ayırt etmek amacıyla kullanılan moleküllerdir. Tanı konulmasında, tedavi yanıtının değerlendirilmesinde ve prognoz takibinde önemli rol oynarlar (28).

2.4.1. Prokalsitonin (PCT)

1993 yılında, Assicot ve ark. prokalsitonini mikrobiyal enfeksiyonlara bağlı sistemik inflamasyonun tanısı ve prognozu için bir belirteç olarak tanımlamıştır (29). Normal fizyolojik şartlarda, tiroid bezi C hücreleri tarafından salgılanan prokalsitonin, sistemik inflamasyon durumunda, bakteriyel endotoksinlere yanıt olarak karaciğer hücreleri, böbrek hücreleri, adipositler ve kas hücreleri de dahil olmak üzere parankimal hücreler tarafından salgılanır ve kalsitonin hormonunun peptit öncüsüdür (30-32). Serum PCT seviyesinin $>0,5$ ng/ml olması, sistemik bir enfeksiyonun ve olası sepsisin bir göstergesi olarak kabul edilir. PCT genellikle inflamasyon başladıktan

sonra iki-dört saat içinde yükselmeye başlar ve yaklaşık 24-36 saatte zirveye ulaşır. PCT'nin 25-30 saatlik bir serum yarı ömrü vardır ve inflamasyon sonlandığında serum konsantrasyonu hızla düşer. PCT yüksekliği ve yüksek kalma süresi hastalık şiddeti ile ilişkilidir ve genellikle bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarda, viral enfeksiyonlara göre daha yüksek seyretmektedir (29, 33).

2.4.2. C- Reaktif Protein (CRP)

1930 yılında, Tillet ve ark. CRP'yi *Streptococcus pneumoniae* pnömonisi olan bir hastanın serumundan elde edilen ve pnömokokların C-polisakkaridlerini presipite eden bir protein “fraction C protein” olarak tanımlamıştır (34, 35). Hepatositler tarafından sentezlenen ve enfeksiyon sırasında IL-6 tarafından indüklenen bir akut faz reaktanıdır (35). CRP genellikle inflamasyon başladıktan sonra altı-sekiz saat içinde yükselmeye başlar ve yaklaşık 36-50 saatte zirveye ulaşır. CRP' nin 19 saatlik bir serum yarı ömrü vardır ve karaciğer tarafından metabolize edilir (35, 36).

2.4.3. İnterlökin-6 (IL-6)

Eskiden B lenfosit uyarıcı faktör 2 olarak da adlandırılan IL-6, temelde T lenfositler olmak üzere B lenfositler, monositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, astrositler ve mezengial hücreler tarafından salgılan proinflamatuvar bir sitokindir (37, 38). Enfeksiyon sırasında nötrofillerin üretimini ve aktivasyonunu, B ve T lenfositlerin çoğalmasını, diferansiyasyonunu ve immünglobulin üretimini stimüle eder. Hepatositleri stimüle ederek akut faz proteinlerinin de sentezini sağlar (39). Yüksek IL-6 seviyeleri şiddetli sepsis riski, organ disfonksiyonu ve mortalite ile ilişkilidir (40, 41).

2.4.4. Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESH)

Edmund Biernacki tarafından 1897 yılında bulunan ESH, eritrositlerin plazmada çökme hızının tespitine dayanır. Gebelik, menstrüasyon ve yaşlılık gibi fizyolojik durumlarda yükselebileceği gibi birçok inflamatuvar hastalıkta da akut faz yanıtı olarak artar. Sınırlı kullanımı olan ve spesifik olmayan ESH, sepsis için diğer biyobelirteçlerle karşılaştırıldığında daha az etkilidir ve sepsis tanısındaki kullanımının azaldığı görülmektedir (42, 43).

2.4.5. Serum Laktat Düzeyi

Laktat, hücre içinde anaerobik metabolizmanın bir yan ürünüdür ve sistemik düzeyde hipoperfüzyon durumu oluşturan klinik durumlarda seviyesi artar (44). Sepsisi septik şoktan ayırmak için yaygın olarak kullanılan bir biyobelirteçtir. Yeni tanı kriterlerinde ileri sıvı ve vazopressör tedavisine rağmen, refrakter hipotansiyon ve laktik asit konsantrasyonunun 2 mmol/L (18 mg/dL)'den yüksek olması septik şok tanısı koydurur (12). Yüksek laktik asit konsantrasyonları septik hastalarda artmış mortalite ile ilişkilidir (45).

2.4.6. Pentraksin 3 (PTX 3)

1990'larda keşfedilmiş olan PTX3, makrofajlar, dendritik hücreler, fibroblastlar, mezangiyal hücreler ve glial hücreler tarafından salgılanır. Yapı ve fonksiyon olarak CRP'ye benzeyen bir akut faz proteinidir (46). Enflamasyonun erken evresinde klasik kompleman yolunu aktive ederek makrofajlar ile dendritik hücreler tarafından patojenlerin tanınmasını sağlar (47, 48). Enfeksiyon durumunda, PTX3 plazma seviyeleri; sepsisin ve organ disfonksiyonunun şiddeti ve mortalite ile doğru orantılıdır. Song ve ark. tarafından yapılan çalışmada mortalite tahmininde SOFA skoruna üstün bulunmuştur (49).

2.4.7. Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 (TREM-1/sTREM-1(soluble))

Myeloid hücreler üzerinde ifade edilen tetikleyici reseptör-1 (TREM-1), immünglobulin süper ailesinin bir üyesidir. Enfeksiyon sırasında inflamatuvar yanıtta rol alan nötrofil, monosit ve makrofajların yüzeyinde bulunan bir transmembran glikoproteinidir (50). Bakteri ve mantarlara maruziyet sonrası aktive fagositler tarafından salgılanır (51). Septik hastalarda sTREM-1, anlamlı derecede yüksek ve hastalık şiddeti ile doğru orantılı bulunmuştur (52).

2.4.8. Presepsin (sCD14)

CD14 (Cluster of Differentiation 14), monosit ve makrofajların hücre membranlarında bulunan bir glikoproteindir. Lipopolisakkaritler (LPS) ile LPS

bağlayıcı proteinler (LPB) için bir reseptör görevi görür. Bakteriyel enfeksiyonların tanısında oldukça spesifik bir biyobelirteçtir, çünkü; bakteriyel fagositoz sonucu mikroorganizmaların lizozomal enzimler tarafından parçalanmasıyla üretilir. Sepsis erken tanısında kullanılan presepsinin, prognoz tahmininde ve sepsisin erken tanısında prokalsitonine göre daha üstün olduğu gösterilmiştir (28, 53, 54).

2.4.9. Nötrofil CD64

Fc reseptör 1 (FcR1) olarak da bilinen CD64, nötrofillerde immünglobulin G 'nin Fc kısmına yüksek afinite ile bağlanan bir membran glikoproteinidir. Enfeksiyon varlığında proinflamatuvar sitokinlere yanıt olarak dört-altı saatte salgılanmaya başlar, yedi günde normal seviyesine döner. Erken sepsis tanısında kullanılan biyobelirteçlerden biridir (55).

2.4.10. Endokan (Endothelial cell specific molecule-1, Endotelial hücre özgül molekül 1, ESM-1)

Akciğer ve böbreklerde vasküler endotelial hücreler tarafından salınan bir dermatan sülfat proteoglikanıdır. Sepsis patogeneğinde de rol oynayan endokanın plazma seviyesi sepsis durumunda artar ve tanıda yardımcıdır (56). Sepsis şiddeti ve organ-spesifik yetmezlik için prognoz göstergesi olarak da kullanılmaktadır (57).

2.4.11. Pro-adrenomedullin

Adrenomedullin, 1993 yılında Kitamura ve ark. tarafından keşfedilen endojen vazodilatör peptittir (58). Yarı ömrü daha uzun olan pro-adrenomedullin adrenomedullinin prekürsörüdür. Kalsitonin ailesinin bir üyesi olan pro-adrenomedullin vasküler endotel hücreleri ve düz kas hücreleri tarafından üretilir. Adrenomedullin seviyeleri, hastalığın ilk aşamalarında organ disfonksiyonunun şiddetinin değerlendirilmesi, sistemik inflamatuvar yanıtın takibi, sepsisten septik şoka geçişi ve septik hastalarında mortalite riskinin belirlenmesinde kullanılabilir (59).

Sepsis tanı, tedavi ve prognoz takibinde kullanılan birçok biyobelirteç mevcuttur; ancak, bunların hiçbirisi tek başına yeterli özgüllük veya duyarlılık düzeyine sahip değildir. Kombine kullanımlarının sepsis tanı, tedavi ve prognoz takibinde daha

faydalı olacağı düşünülmektedir. En yaygın kullanılan biyobelirteçler PCT ve CRP'dir (28, 60).

2.1. SEPSİS TANISI

Sepsis 3 tanımına göre, enfeksiyon şüphesi olan hastalar qSOFA skoru ile hızlı bir şekilde değerlendirilmelidir. qSOFA skoru, iki veya daha yüksek bir skora sahip hastalar sepsis açısından araştırılmalıdır. Sepsis tanısı için, şüpheli ya da kanıtlanmış bir enfeksiyon varlığıyla birlikte qSOFA skorunun iki veya daha yüksek olması ve SOFA skorunda iki puanlık bir artışın olması gerekmektedir. Sepsis tanısı olan hastalarda ileri sıvı ve vazopressör tedavisine rağmen refrakter hipotansiyon (ortalama arteriyel basınç <65 mm Hg) ve yüksek serum laktat düzeyi (>2 mmol/L) olması ise septik şok tanısı koydurur (15).

2.2. SEPSİS TANI YÖNTEMLERİ

Sepsisin kesin tanısı etkenin kandan izole edilmesi ile konulmaktadır. Sepsis klinik tanısının mikrobiyolojik olarak doğrulanmasında (sepsise yol açan etkenin belirlenmesinde) kullanılan tanı yöntemleri; kan kültürü, nükleik asit temelli yöntemler ve proteomik temelli yöntemlerdir (61).

2.2.1. Standart Kan Kültürü Laboratuvar Yönetimi

2.2.1.1. Set Kavramı ve Örneklerin Alınması- Preanalitik Süreç

Kan kültürleri, klinik mikrobiyoloji laboratuvarları için en kritik örneklerden biridir. Sepsis tanısında etkenin kandan izole edilmesinde kan kültürleri altın standart yöntemidir. Laboratuvarda yüksek kaliteli kan kültürü sonuçlarının elde edilmesi örnek alımından sonuçların değerlendirilmesine kadar olan preanalitik, analitik ve post analitik süreçlerin doğru yönetilmesine bağlıdır. En sık hata, kan örneğinin alınması ve laboratuvara ulaştırılmasını kapsayan preanalitik süreçte meydana gelir.

"Bir kan kültürü seti" terimi, tek bir venöz girişimle alınan kanın, kültür için ayrılan şişelere dağıtılmasını ifade eder. Bu set, ideal olarak bir aerobik ve bir anaerobik şişeyi içermelidir. Hem aerobik hem de anaerobik şişeleri barındıran setlerin, sadece aerobik şişe içeren setlere göre stafilokok türlerinin, *Enterobacteriaceae* ailesi ve anaerobik bakterilerin tespit oranını artırdığı gözlenmiştir

(62). Hastanın mevcut klinik tablosu, muhtemel enfeksiyonun türü ve tedaviye yönelik acil ihtiyaç gibi faktörlere bağlı olarak, ideal kan kültürü seti sayısında değişiklikler olabilir. Tek bir kan kültürü setinin kullanılması genellikle yetersizdir ve yenidoğan dönemi dışında önerilmez. Tek bir kan kültürü şişesi kullanımı, koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), *Corynebacterium* spp. ve *Bacillus* spp. gibi potansiyel kontaminantların, gerçek bakteriyemi etkenlerinden ayırt edilmesinde yetersiz kalabilir. Bu sebeplerle, doğru ve güvenilir bir tanı için birden fazla kan kültürü setinin alınması önemlidir. Yetişkin hasta grubunda her kan kültürü seti için alınması gereken optimal kan hacmi 20-30 mL'dir. Pediatrik hasta grubunda ise mikroorganizma varlığını tespit etmek için en az 2 mL kan örneği alınması gereklidir. Bu hastaların toplam kan hacmi ve kilosu göz önünde bulundurularak, alınabilecek en yüksek kan hacmi miktarının alınması, kan kültürü sonuçlarının doğruluğu açısından önemlidir. Alınan her mililitre kanda organizma tespit oranı %1-3 oranında artar. Kan kültürü duyarlılığını etkileyen en önemli faktörlerden biri alınan kan miktarıdır. Sepsis, osteomyelit, menenjit, pnömoni ve piyelonefrit gibi acil tedavi gerektiren durumlarda, antimikrobiyal tedaviye başlamadan önce iki farklı damardan ardışık olarak maksimum hacimde iki kan kültürü setinin alınması önerilir. Eğer kelebek kan alma seti tercih ediliyorsa, kanın ilk olarak aerobik şişeye inoküle edilmesi, “vacutainer” veya enjektör kullanımında ise öncelikle anaerobik şişeye inokülasyonun yapılması tavsiye edilmektedir. Ateşin başlamasından önceki 30-60 dakikalık dönem, kanda mikroorganizma konsantrasyonunun en yüksek olduğu zaman dilimidir. Bu zaman dilimini önceden tahmin etmek her zaman mümkün olmayabilir. Dolayısıyla, ateş yükselmeye başladıktan sonra mümkün olan en kısa sürede kan kültürü alınmalıdır (4, 62-65). Kan kültürleri genellikle çevresel veya ciltte bulunan mikroorganizmalarla kontamine olur. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI- Clinical and Laboratory Standards Institute) tarafından önerilen kan kültürü kontaminasyon oranlarının %3' ün altında tutulmasıdır (66, 67). Kontaminasyonun önlenmesinde en önemli faktörlerden biri etkili cilt antisepsisidir. Etkili cilt antisepsisi için sırasıyla; %70 izopropil alkol içeren steril gazlı bir bezle en az 30 saniye boyunca kuvvetlice silinmeli, 30 saniye kuruması beklendikten sonra %1-2 iyot tentürü, %10 povidon iyodin veya %2 klorheksidin glukonat içeren steril gazlı bir bezle, merkezden dışa doğru konsantrik halkalar çizerek cilt silinmelidir. Etki etmeleri için kan almadan önce

iyot tentürü ve povidon iyodin için bir-iki dakika; klorheksidin glukonat için bir dakika beklenmesi önerilmektedir (62, 68).

2.2.2. Kan Kültürü İnkübasyon Yöntemleri

2.2.2.1. Kan Kültürünün Manuel Sistemler ile İnkübasyonu

Geleneksel manuel yöntemlerde, kan kültürü şişelerine örnek alınır ve bunlar belirli bir süre (genellikle yedi gün) inkübasyona bırakılır. Her gün, şişeler mikrobiyal üreme belirtileri (hemoliz, gaz oluşumu, besiyerinin bulanıklığı veya belirgin koloni oluşumu vb.) açısından makroskopik olarak değerlendirilir. Mikrobiyal üreme belirtisi varlığında, şişelerdeki mikroorganizmaların tespiti için Gram boyama ve kültür yapılır (68). Monofazik olan bu yöntem daha sonraları modifiye edildi. Broth besiyeri ve agarı bir arada içeren (Castaneda şişeleri) bifazik sistemler olan “Septi-Chek” (Becton Dickinson, USA), “Opticult” (Becton Dickinson, USA) ve “Oxoid Signal” (Oxoid Unipath, England) kan kültürü sistemleri geliştirildi.

Septi-Chek ve Opticult kan kültürü sistemi, bifazik agar sistemidir. Sistem, beyin-kalp infüzyon buyyon ve triptik soy buyyon içeren kan kültürü şişesi kullanır ve bu şişe agar yüzeyli ikinci bir plastik hazneye bağlanacak şekilde tasarlanmıştır. Kültür, şişe ters çevrilerek, sıvı besiyerinin agar içeren bölmeye girmesi ile yapılır. Şişe daha sonra inkübasyonun devam etmesi için tekrar dik olarak yerleştirilir. Üreme makroskopik olarak incelenir. Bifazik sistemin mayaları ve özellikle üremesi zor olan bakterileri tespit etmede iyi performans gösterdiği bildirilmiştir.

Oxoid Signal sistemi tek şişeli bir kan kültürü sistemidir. Kanın şişeye inoküle edilmesinin ardından, şeffaf plastikten yapılmış sinyal ünitesi şişenin üst kısmına takılır. Mikroorganizma varlığında metabolizma sonucu açığa çıkan CO₂ ile şişenin üst kısmındaki basınç artar ve kan-sıvı besiyeri karışımı silindir içindeki iğne boyunca yükselir, böylece pozitif kültüre işaret eden bir sinyal oluşur.

Wampole Isostat/Isolator Sistemi (Alere, Waltham, MA), sıvı besiyeri kullanmayan tek ticari kan kültürü sistemidir. Kan hücrelerinin lizisine sebep olan özel bir tüp kullanılan bu sistemde alınan kan santrifüj edildikten sonra, kalan sediment katı besiyerine doğrudan inoküle edilir. Özellikle mayalar, filamentöz mantarlar, mikobakteriler, *Bartonella henselae* gibi fırsatçı patojenlerin saptanmasında iyi

performans göstermektedir. Bu sistemin potansiyel avantajı, bakteriyemi veya fungemi düzeyini kantitatif olarak saptamasıdır (69-71).

2.2.2.2. Kan Kültür Şişelerinin Otomatize Sistemler ile İnkübasyonu

Günümüzde, kan kültürü şişelerinin inkübasyonu ve mikroorganizma üremesinin izlenmesinde, genellikle sürekli monitörize otomatize kan kültürü sistemleri tercih edilmektedir. Bu sistemlerin üçü FDA (Food and Drug Administration- Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylanmıştır ve piyasada yaygın olarak kullanılmaktadır: BACTEC (Becton Dickinson, ABD), BacT/Alert (bioMérieux, Fransa) ve VersaTREK (Thermo Scientific, ABD) (4, 70). Sepsis tanısında kan kültüründen otomatize sistemlerle etken mikroorganizmaların saptanması için belirlenen standart inkübasyon süresi beş gündür (62). Bu otomatize sistemler tarafından kan kültür şişeleri her on dakikada bir önceden programlanmış pozitiflik parametrelerine göre analiz edilir ve sistem tarafından yorumlanarak, üreme bulgusu olduğunda pozitif sinyal verir. İnkübasyonun başlangıcından pozitifliğin saptandığı zamana kadar geçen süreye pozitiflik zamanını ifade eden “time to positivity (TTP)” adı verilir. Pozitif sinyalin ardından şişeler mümkün olan en kısa sürede cihazdan çıkarılmalı ve işleme alınmalıdır. Beş gün boyunca pozitif sinyal alınmazsa sonuç “üreme olmadı” olarak raporlanır (4, 5, 70).

Tablo 3. Otomatize Kan Kültür Sistemleri ve Kullanılan Kan Kültür Şişeleri (4)

Kan Kültür Sistemi	Mikrobiyal Üremenin Tespit Yöntemi	Şişe Çeşitleri	Ek Bilgiler	FDA Onaylı Endikasyonlar	Maximum Hacim
BACT/ALERT	Artan CO ₂ seviyelerinden kaynaklanan pH düşüşünün neden olduğu kolorimetrik değişikliğin tespiti	BACT/ALERT FA PLUS ve BACT/ALERT FN PLUS	Adsorban polimerik reçine boncukları içeren aerobik ve anaerobik ortam	Kan veya SVS*	10 ml
		BACT/ALERT PF PLUS	Pediyatrik, standart aerobik	Kan	4 ml
		BACT/ALERT ON ve BACT/ALERT SN	Standart aerobik	Kan veya SVS*	10 ml

Kan Kültür Sistemi	Mikrobiyal Üremenin Tespit Yöntemi	Şişe Çeşitleri	Ek Bilgiler	FDA Onaylı Endikasyonlar	Maximum Hacim
BACTEC	Artan CO ₂ seviyelerinden kaynaklanan pH düşüşünün neden olduğu floresan değişikliğin tespiti	BACTEC Plus Aerobik ve Anaerobik	Adsorban polimerik reçine boncukları içeren aerobik ve anaerobik ortam	Kan	10 ml
		BACTEC Pedler Plus	Pediyatrik, adsorban polimerik reçine boncukları içeren aerobik ortam	Kan	5 ml
		BACTEC Standart Aerobik ve Anaerobik	Standart aerobik ve anaerobik	Kan	10 ml ve 7 ml
		BACTEC Myco/F Lytic	Mikobakteriyel/mantar ortamı	Kan	5 ml
VersaTREK	Gaz tüketimi veya üretiminden kaynaklanan basınç değişikliğinin tespiti	REDOKS 1 ve 2	Aerobik ve anaerobik	Kan veya SVS*	10 ml
		REDOX 1 ve 2 EZ DRAW	Aerobik ve anaerobik, doğrudan kan aşılama	Kan veya SVS*	5 ml
		VersaTREK Myco	Mikobakteriyel ortam	Kan, SVS* veya işlenmiş örnek	1 ml

*SVS: Steril Vücut Sıvısı

Gonzalez MD, Chao T, Pettengill MA. Modern Blood Culture: Management Decisions and Method Options. Clin Lab Med. 2020 Dec;40(4):379-392. doi: 10.1016/j.cll.2020.07.001. Epub 2020 Sep 19. PMID: 33121610; PMCID: PMC7501519. den uyarlanmıştır (4).

2.2.3. Pozitif Kan Kültürü Şişelerinin Analizi

2.2.3.1. Gram Boyama ve Katı Besiyeri Ekimleri

Pozitif sinyal alınan kan kültüründen yapılacak ilk ve en etkili işlem Gram boyamadır. Kan kültürlerindeki mikroorganizmaların belirlenmesinde en hızlı ve en basit yöntemdir. Gram boyama sonuçları, seçilen ampirik antimikrobiyal tedavinin uygunluğunu değerlendirmeye yardımcı olur (72). Gram boyama ile birlikte, katı besiyerlerine de ekim yapılır. Bu ekimler genellikle %5 koyun kanlı agar ve çikolata agar gibi zengin besiyerleri kullanılarak yapılır. Gram negatif bakteriler için, seçici besiyerleri olan MacConkey agar veya eosin-metilen mavisi agar gibi özel besiyerleri

de kullanılabilir. Ayrıca, maya hücrelerinin görüldüğü şişelerde, tanımlama için Sabouraud dextrose agar kullanılabilir. Pozitif sinyal alınan şişeler, eğer anaerobik kan kültürü şişesi ise, anaerobik bir ortamda inkübe edilmek üzere ek olarak Schaedler kanlı agar, anaerobik bazal agar veya Brucella kanlı agar gibi anaerobik besiyerlerine ekim yapılabilir (62).

2.2.4. Bakteri Tanımlama Yöntemleri

2.2.4.1. Konvansiyonel Yöntemler

Gram pozitif bakterilerin tanımlanmasında, katalaz, koagülaz, safrada erime, eskülin hidrolizi ve L-pirolidonil β -naftilamid (PYR) gibi biyokimyasal testler; Gram negatif bakterilerin tanımlanmasında ise glikoz fermentasyonu, üreaz, oksidaz, indol, aminoasit dekarboksilasyonu gibi biyokimyasal testler kullanılarak tanımlama yapılmaktadır. Gram pozitif, Gram negatif, nonfermenter, maya ve anaerob gibi belirli mikroorganizma gruplarını içeren ticari manuel biyokimyasal tanımlama sistemleri de geliştirilmiştir. Bu sistemler arasında API (bioMérieux, Fransa), BBL Crystal (Becton Dickinson, ABD), BBL Enterotube II (Becton Dickinson, Almanya), RapID (Remel/Thermo- Fisher Scientific, USA) ve Microbact (Oxoid, İngiltere) gibi ticari kitler bulunmaktadır (73).

2.2.4.2. Otomatize Sistemler

Bakteriyel izolatların tanımlanmasında otomatize sistemler, günümüzde birçok klinik tanı laboratuvarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Piyasada bulunan bu sistemler, biyokimyasal reaksiyonlar, yağ asidi analizi ve DNA dizileme gibi farklı yaklaşımlara dayanmaktadır. En sık kullanılanlar VITEK 2 (bioMérieux, Fransa), Phoenix (Becton Dickinson, ABD) ve Microscan Walkaway (Beckman Coulter, ABD) otomatize tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık sistemleridir.

VITEK 2, üreme bazlı, floresan ve kolorimetrik tabanlı bir teknolojiyle çalışan tam otomatize bir tanımlama sistemidir. Mikrobiyal tanımlama kartlarında meydana gelen biyokimyasal reaksiyonlar, optik bir sinyal üretir ve bu sinyalin değerlendirilmesine dayanır. Bilinmeyen mikroorganizmanın standart süspansiyonu, cihazın içine yüklenir ve ardından kart cihaz içinde inkübe edilir. Cihazın optik okuyucusu tarafından bu reaksiyonlar 15 dakikada bir okunur. VITEK 2 veri

tabanındaki sonuçlar, bilinen türlere özgü reaksiyonlarla karşılaştırılarak mikroorganizmanın tanımlanmasını sağlar. VITEK 2 cihazındaki antimikrobiyal duyarlılık testleri ise, broth mikrodilüsyon esasına dayanır ve seri dilüsyonların otomatik oluşturulması cihaz tarafından gerçekleştirilir. Önceden hazırlanan bakteri süspansiyonu, kapiller aracılığıyla test kuyucuklarına aktarılır ve burada bulunan antimikrobiyal ajanlarla etkileşime girer. Kuyucuklarda çoğalan bakterilerin oluşturduğu bulanıklık, türbidimetrik yöntemle ölçülür. Elde edilen üreme verileri, bilgisayar algoritmaları tarafından doğrudan veya niteliksel olarak yorumlanır ve Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değeri belirlenir (73-75).

Phoenix ID panelleri, geleneksel yöntemlerin modifikasyonlarına dayanan testlerden oluşur. Bu testler, substratların fermentasyon, oksidasyon, degradasyon ve hidrolizini içerir. Phoenix otomatize sistemi, bakteri tanımlamasında tek karbon kaynağı substratların yanı sıra kromojenik ve florojenik substratları da kullanır. Oluşan substrat reaksiyon profiline göre, Phoenix veritabanı organizma tanımlaması yapar ve doğruluk yüzdeleri ile sonuç raporuna yansıtır. Antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde ise broth mikrodilüsyon yöntemini baz alan Phoenix AST panelleri kullanılır (76).

Microscan Walkaway sistemi, mikrotitre kuyucuklarını içeren panellerle çalışır. Panellere manuel olarak inokule edilen bakterilerin tanımlanması, florojenik ve florometrik reaksiyon prensiplerine dayanır. Florojenik reaksiyonlarda, bakteriye özgü bir enzim varlığında floresan bileşiğin serbest kalması neticesinde floresan özellik ortaya çıkar. Florometrik reaksiyonlar ise pH değişikliklerini tespit eder; ortamın asit düzeyindeki artış pH'da düşmeye ve sonuçta floresansta azalmaya neden olur. Benzer fenotiplere sahip türler, floresan salınım oranlarının ölçümüyle ayrılır. Kolorimetrik optik sistem, her okuma döngüsünde altı farklı dalga boyunda okuma yaparak her kuyucuktaki reaksiyonu en iyi ayırt eden dalga boyunu seçer. Paneller, 35°C'de 15-18 saat inkübasyonun ardından görsel olarak veya otomatik okuyucu tarafından okunarak yorumlanabilir. Bu sistem aynı panelde eş zamanlı olarak broth mikrodilüsyon yöntemiyle antimikrobiyal duyarlılık testlerine de olanak sağlar (75).

2.2.4.3. Kütle Spektrometrisine Dayalı Yöntemler

Kütle spektrometrisi, farklı bileşiklerin kütle ve yük oranlarını analiz etmek için kullanılan bir analitik tekniktir. Bu teknik, çeşitli iyonizasyon ve saptama sistemlerine dayanır. Biyomoleküllerin analizinde en yaygın kullanılan yöntem, Matriks Aracılı Lazer Desorbsiyon İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometrisi (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS)'dir. Ülkemizde kullanılan iki MALDI-TOF MS sistemi vardır: MALDI Biotyper (Bruker Biotyper; Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) ve VITEK MS (bioMérieux, Fransa). MALDI-TOF MS, örnek materyalin lazer atışlarıyla matriks içinde çözülüp iyonlaşması temeline dayanır. Numuneler, matriks içinde hazırlanır ve lazerin etkisiyle iyonlaşır. Oluşan iyonlar, hızlandırılarak dedektöre ulaşır. Dedektöre ulaşmak için gereken uçuş süresi (TOF), bileşen proteinlerin kütlesine ve yüküne bağlıdır. Kütle/yük oranı ve dedektöre ulaşan sinyalin yoğunluğu birlikte bir kütle spektrumu oluşturur. Elde edilen kütle spektrumu referans veri tabanındakilerle karşılaştırılarak mikroorganizma cins ve tür düzeyinde tanımlanır. MALDI-TOF MS sistemi ile koloniden tanımlamanın dışında kan ve idrar gibi örneklerden direkt olarak tanımlama da yapılabilmektedir. Bu sistem aynı zamanda bakterilerde antibiyotik direnç mekanizmalarının doğrudan saptanması ve sekans tiplerinin belirlenmesinde de kullanılabilmektedir (77-79).

2.2.4.4. Kan Kültüründe Moleküler Yöntemler

Mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılan moleküler teknikler, hibridizasyona dayalı ve amplifikasyona dayalı yöntemler olarak ikiye ayrılabilir (80).

i. Hibridizasyona dayalı yöntemler

Pozitif sinyal veren kan kültürlerinde patojenlerin saptanması için uygun hibridizasyon yöntemleri arasında prob matriksleri ve floresan in-situ hibridizasyon (FISH) yöntemleri bulunmaktadır. Hibridizasyon prob yöntemlerinde, ribozomal RNA'ya (rRNA) bağlanarak, hedef nükleik asidin varlığını tespit etmek üzere florokrom ile işaretlenmiş oligonükleotid problemler kullanılır. Cins veya türe özgü olan bu problemlerin floresan sinyali, mikroskop altında değerlendirilir. Hibridizasyona dayalı bir yöntem olan PNA FISH (AdvanDx), *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida* spp.

gibi yaygın patojenlerin tanımlanmasında %95 ila %100 arasında değişen duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir (81).

ii. Amplifikasyona dayalı yöntemler

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), amplifikasyona dayalı yöntemler arasında en yaygın kullanılan yöntemdir (54). PZR tek bir mikroorganizmayı veya aynı anda test edilen mikroorganizma panellerini hedefleyebilir (4). Mikroorganizmaların tanımlanmasında PZR ile çoğaltılan hedef gen bölgeleri; ribozomal RNA (16S rRNA, 23S rRNA, 5S rRNA), Intergenic spacer region (ITS), ısı-şok proteinleri (HSP60, HSP 65, groEL, groER), antibiyotik direnç genleri ve özgül hedeflerdir (82).

Standart bir PZR testi, belirli bir gen bölgesinin milyonlarca kopyasının çoğaltılması prensibiyle çalışır. Bu, bir çift oligonükleotid primerin kullanılmasıyla gerçekleştirilir. Herhangi bir enfeksiyöz etkenin tanımlanamadığı numunelerde muhtemel etkeni saptayabilmek için geniş kapsamlı tarama testlerine ihtiyaç duyulur.

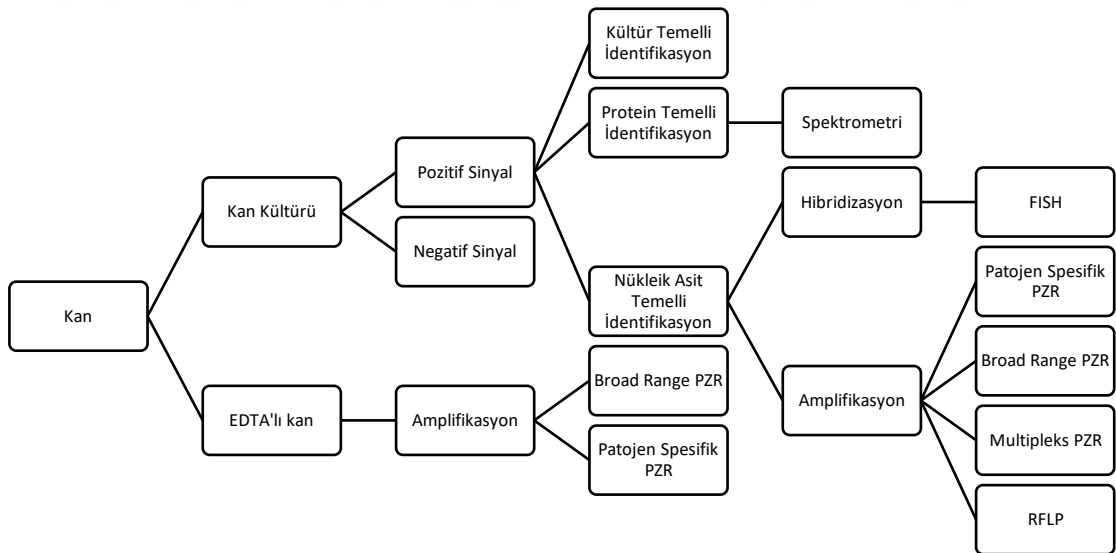
Broad Range PZR yöntemi ile, tüm bakteriler için ortak olan korunmuş gen (16S RNA) bölgeleri hedeflenir. Bu yöntemle kandaki bakteriyel DNA varlığı tespit edilebilir ancak spesifik tanımlama yapılamamaktadır. Spesifik tanımlama için amplifikasyonun ardından ampikonlar, dizi analizi veya spesifik problemlerle hibridizasyon gibi ikincil yöntemlerle tanımlanabilmektedir.

Real-time PZR (Gerçek Zamanlı PZR/GZ PZR), çoğaltılan DNA miktarını her amplifikasyon döngüsünde gerçek zamanlı olarak izleyen bir moleküler tanı yöntemidir. Bu yöntemde, amplifikasyon ürünlerinin eş zamanlı olarak görüntülenmesi iki ana yaklaşımla gerçekleştirilir; spesifik olmayan floresan boyalar ve floresan etiketli sekans spesifik oligonükleotit problemler. Spesifik olmayan floresan boyalar (SYBR green, Evagreen, etidyum bromür), çift iplikçikli DNA'ya bağlandıklarında floresans verirler ve amplifikasyon ürünlerinin miktarını belirlemek için kullanılırken; oligonükleotit problemler hedef sekansa spesifik olarak bağlanır ve amplifikasyon sırasında floresan sinyalini artırır. Bu problemler arasında, hidroliz problemleri (TaqMan problemleri), saç tokası problemleri (hairpin problemleri) ve floresan rezonans enerji transferi (FRET) problemleri bulunur. GZ PZR testleri, kısa sürede sonuç verir ve yüksek tekrarlanabilirlik gösterir. Yüksek sensitivite ve spesifiteye sahiptir. Bu yöntem, enfeksiyöz patojenlerin tanımlanması, suşların tiplendirilmesi, antimikrobiyal

duyarlılık profillerinin belirlenmesi, toksin üretiminin saptanması, mRNA-gen ekspresyon analizleri ve spesifik gen ve alellerin tespitinde yaygın olarak kullanılan güvenilir bir moleküler tanı yöntemidir.

Multipleks PZR ile çeşitli spesifik özelliklere sahip farklı primer çiftleri aynı reaksiyonda kullanılabilir. Böylece bir klinik örnekte iki veya daha fazla sayıda mikrobiyal etkenin veya aynı etkenin farklı alt tiplerinin varlığı aynı anda araştırılabilir, hatta reaksiyon karışımına internal kontroller eklenerek tüm amplifikasyonlar aynı reaksiyon koşullarında tek tüp içerisinde ve tek basamakta gerçekleştirilebilir. Günümüzde geniş bir patojen dizisini tespit edebilen multipleks moleküler tanı testlerinin geliştirilmesi ile “sendromik panel yaklaşımı” ortaya çıkmıştır. Sendromik panel yaklaşımı ile sepsis tanısında kullanılan ticari sistemler Tablo 4’ de özetlenmiştir (6, 82-84).

Terminal restriksiyon-fragment uzunluk polimorfizmi (T-RFLP) analizi ve tek iplikçik konformasyon polimorfizmi (SSCP) analizi genellikle mikroorganizmaların tiplendirilmesinde kullanılır. Kan kültürlerinde üreyen patojenlerin tanısında nadiren kullanılmışlardır. İzotermal transkripsiyon aracılı teknik sadece kan kültürlerinde üremiş *Candida* türlerinin hızlı tanısı için kullanılmıştır (80).



Şekil 1. Sepsis Tanı Yöntemleri Algoritması

Peters RP, van Agtmael MA, Danner SA, Savelkoul PH, Vandenbroucke-Grauls CM. New developments in the diagnosis of bloodstream infections. The Lancet Infectious Diseases 2004; 4(12):751-60'den uyarlanmıştır.

Tablo 4. Sepsis Tanısında Kullanılan Ticari Sistemler (62)

Tanımlama Yöntemi		Saptanabilen Etken Sayısı	Tanımlanan Direnç Geni	Test Sonuçlanma Süresi (sa)
Ticari İsmi	Prensibi			
Pozitif Kan Kültüründen Uygulananlar				
MALDI-TOF MS	Kütle Spektrometrisi	Yüzlerce	-	<1
PNA-FISH(AdvanDx, ABD)	Floresan Bazlı Hibridizasyon	10	-	1,5-3
AccuProbe (Gen-Probe, ABD)	Kemilüminesan DNA prob (rRNA)	5	-	<1
HYPLEX (BAG, Almanya)	Multipleks PZR+ hibridizasyon	10	mecA	
PLEX-ID BAC (Abbott Molecular, ABD)	Broad Range PZR+ ESI-MS*	>300	-	
StaphPlex (Qiagen, ABD)	Multipleks PZR+ mikroarray	Staphylococcus aureus (S. aureus)	mecA	5
Staph SR (BD GeneOhm, ABD)	Multipleks PZR	S. aureus	mecA	1-2
Prove it sepsis (Mobidiag, Finlandiya)	Multipleks PZR+ mikroarray	60 bakteri 13 mantar	mecA, vanA/B	3
Verigene Gram negatif - pozitif bakteri(Nanosphere, ABD)	Nükleik asit temelli mikroarray	9 Gram (-) 13 Gram (+)	CTX-M, NDM, KPC, OXA, VIM, mecA, vanA/B	2,5
Filmarray (Biofire, ABD)	GZ-Multipleks PZR	26 bakteri 7 mantar	IMP, KPC, OXA-48, NDM, VIM,	1

			mcr-1, CTX-M, mecA/C, vanA/B	
Xpert MRSA/SA (Cepheid, ABD)	GZ-Multipleks PZR	<i>S. aureus</i>	mecA	1
GenMark Dx ePlex (Roche, İsviçre)	GZ-Multipleks PZR	21 Gram (+) 22 Gram (-) 16 mantar	CTX-M, IMP KPC, NDM, OXA-23, OXA-48, VIM, mecA, mecC vana, vanB	1,5
Tam Kandan Uygulananlar				
Xpert MRSA/SA (Cepheid, ABD)	GZ-Multipleks PZR	<i>S. aureus</i>	mecA	1-1,5
Septifast (Roche, İsviçre)	GZ-Multipleks PZR	14 bakteri 5 mantar	mecA	4-5
VYOO (SIRS Lab, Almanya)	Multipleks PZR+jel elektroforezi	32 bakteri 7 mantar	-	8
SepsiTest (Molzym, Almanya)	Broad Range PZR+ sekanslama	>345 bakteri ve mantar	-	8-12
Magicplex (Seegene, Kore)	GZ-Multipleks PZR	90 bakteri 6 mantar	mecA, vanA/B	4-6
PLEX-ID (Abbott Molecular, ABD)	Multipleks PZR/ESI-MS	~800 bakteri ve mantar	mecA, vanA/B, KPC	6

*ESI-MS: Electrospray Ionization Mass Spectrometry

Kan Dolaşımı Örneklerinin Laboratuvar İncelemesi Rehberi. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği(KLIMUD) 2022 ‘den uyarlanmıştır.

2.3. SEPSİS ETKENİ MİKROORGANİZMALAR

Sepsis ve septik şok toplum kaynaklı, sağlık hizmetleriyle ilişkili veya hastane kaynaklı enfeksiyonlara sekonder olabilir (85). En yaygın nedenler arasında pnömoni, intraabdominal enfeksiyonlar ve idrar yolu enfeksiyonları yer almaktadır (86). Ayrıca cerrahi işlemler sonrasında, kateterler, vasküler protezler, protez kalp kapakları ve

dokulara yerleştirilen yabancı cisimler sonrasında ve intravenöz ilaç kullanımına bağlı sepsis gelişebilir. Etken mikroorganizmalar bakteri, mantar veya polimikrobiyal olabilir. Sepsise en sık neden olan patojenler bakteriyel etkenlerdir. Son 25 yılda gram pozitif bakterilerin sepsisin en yaygın nedeni olduğu bildirilmiştir (87).

En sık sepsis etkeni olan mikroorganizmalar;

- Gram-pozitif bakterilerden; koagülaz negatif stafilokok türleri; özellikle *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Enterococcus spp.*,
- Gram-negatif bakterilerden; *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Enterobacter spp.*,
- Anaerobik bakterilerden; *Bacteroides*, *Fusobacterium spp.*, peptostreptokoklar ve *Clostridium spp.*,
- Mantarlardan; en sık etken maya mantarları olup, sıklıkla *Candida* türleridir. Küf mantarlarının kandan saptanması daha nadirdir. Kan kültüründen izole edilen küf mantarları sıklıkla *Fusarium*, *Acremonium*, *Scedosporium* türleridir (62, 88, 89).

2.4. SEPSİS RİSK FAKTÖRLERİ VE KLİNİK BULGULARI

2.4.1. Sepsis Risk Faktörleri

- <1 yaş veya >75 yaş olmak
- Konjenital ya da kazanılmış immün yetmezlik
- Kemoterapi tedavisi
- Transplantasyon
- İmmün sistemi bozan durumların varlığı (diyabet, orak hücre anemisi, splenektomi)
- Uzun süreli kortikosteroid tedavisi
- Son altı hafta içinde geçirilen cerrahi veya invazif işlem
- Yoğun bakımda yatış
- Cilt bütünlüğünde bozulma (kesikler, yanıklar veya cilt enfeksiyonlarına bağlı)
- İntravenöz ilaç kullanımı
- İntravenöz kateter veya sondası

- Son altı hafta içinde hamile olan, doğum yapan veya düşük yapan kadınlarda; özellikle aşağıdaki eşlik eden durumların varlığı;
 - Gestasyonel diyabet, diyabet ve diğer komorbiditeler,
 - Sezaryen, forsepsle doğum ve invazif prosedürler,
 - Uzun süreli membran rüptürü,
 - A grubu streptokok enfeksiyonu olan biriyle yakın temas,
 - Vajinal kanamanın devam etmesi ve kötü kokulu vajinal akıntı (90-92).

2.4.2. Sepsis Klinik Bulguları

Sepsisin semptom ve bulguları spesifik değildir. Sepsis vakalarında genellikle gözlemlenen semptomlar arasında hipotansiyon, taşikardi, ateş ve lökositoz yer alır. Hastanın durumu ağırlaştıkça, soğuk deri, siyanoz gibi şok belirtileri ve oligüri, akut böbrek hasarı, mental durumda bozulma gibi organ disfonksiyonları ortaya çıkar. Bu semptomlar, pankreatit veya akut solunum yetmezliği sendromu gibi çeşitli hastalıklarda da görülebileceğinden, sepsis tanısında spesifik değildir. Sepsiste altta yatan hastalığa, primer enfeksiyon odağına ve sistemik inflamasyona bağlı belirti ve bulgular klinik tabloya hakimdir. Öksürük ve nefes darlığı, pnömoniye; opere edilen bölgede ağrı ve pürülan akıntı, altta yatan bir apse olabileceğini düşündürebilir. Sepsisle ilişkili primer enfeksiyon odakları solunum yolu/akciğer parankiması (%43), üriner sistem (%16), abdomen (%14), nedeni bilinmeyen ateş ilişkili baş bölgesi (%14) ve diğer bölgeler/nedenler (%13) şeklindedir (1). Sistemik inflamasyon bulguları zaten SIRS tanı kriterleri olarak kullanılmakta olup yukarıda bahsedilmiştir (13).

2.5. SEPSİS TEDAVİ VE TAKİBİ

2021 yılında güncellenen “Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock” kılavuzunun sepsis tedavi ve takip önerileri şu şekildedir:

- Sepsis ve septik şok tıbbi acil durumlardır. Tedavi ve resüsitasyonun hemen başlanması
- Detaylı klinik muayene ve fizyolojik değişkenlerin (nabız, kan basıncı, arteriyel oksijen saturasyonu, solunum hızı, vücut ısısı, idrar çıkışı) takibi ve monitörizasyonu

- Sepsis kaynaklı hipoperfüzyon veya septik şoklu hastalar için resüsitasyonun ilk üç saati içinde en az 30 mL/kg intravenöz (i.v.) kristaloid sıvı verilmesi
- Vazopressör ihtiyacı olan septik şoklu yetişkinler için 65 mmHg'lık bir başlangıç hedef ortalama arter basıncı
- Vazoaktif ajan olarak ilk tercih olan norepinefrinin kullanılması; bulunmadığı durumlarda, alternatif olarak epinefrin veya dopamin kullanılması
- Norepinefrin tedavisi (0,01-3 mcg/kg/dk i.v. infüzyon) altında yetersiz OAB seviyelerine sahip septik şoklu yetişkinlerde, norepinefrin dozunu artırmak yerine vazopressin eklenmesi
- Yeterli sıvı resüsitasyonu ve vazopressör tedavinin hemodinamik stabiliteyi yeniden sağlayamaması durumunda i.v. kortikosteroidler (hidrokortizon) kullanılması
- Muhtemel septik şoku olan veya sepsis olasılığı yüksek olan yetişkinler için, antimikrobiyal tedavinin hemen, ideal olarak tanı konulduktan sonraki bir saat içinde, öncesinde iki set kan kültürü alınarak başlanması
- Şok kliniği olmayan septik hastalarda, mevcut tablonun sebebi olabilecek, altta yatan enfeksiyöz ve/veya enfeksiyöz olmayan sebeplerin incelenmesi; eğer sebep saptanamadıysa, ilk üç saat içinde antibiyoterapi başlanması
- Antibiyotik tedavisinin muhtemel tüm patojenleri kapsamaması için bir veya daha fazla antimikrobiyal ile ampirik geniş spektrumlu tedavi planlanması
- Şok kliniği olmayan ve enfeksiyon ihtimali düşük erişkin hastalarda; vakanın yakından takip edilmesi ve bu süreç içinde de antibiyoterapinin ertelenmesi
- Stres ülserine bağlı gastrointestinal kanama riski taşıyan sepsis veya septik şok hastalarında, proton pompa inhibitörleri veya histamin-2 reseptör antagonistlerinin profilaksi amacıyla kullanılması
- Kontraendikasyon yoksa venöz tromboemboli riski için düşük molekül ağırlıklı heparin profilaksisi uygulanması
- Sepsis ilişkili akut respiratuvar distres sendromu (ARDS) tanılı erişkin hastalarda, mekanik ventilasyonda, vücut ağırlığına göre 6 mL/kg tidal hacim uygulanması
- Kan glukoz düzeyi kontrolünde, ardarda iki kan glukoz düzeyi >180 mg/dL olduğunda insülin başlanması önerilmektedir (14, 15).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, tek merkezli ve prospektif olarak tasarlandı. Çalışma Ankara Bilkent Şehir Hastanesi 2 No'lu Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı tarafından 09/08/2023 tarih ve E2-23-4626 sayılı kararı ile onaylandı (Ek-1). Bilgilendirilmiş gönüllü onam formu hastalardan veya hasta yakınlarından yoğun bakım ünitesine yatışı sırasında alındı. Çalışma, rutin tanı akışını ve klinik yansımalarını etkilemeyecek şekilde gerçekleştirildi.

3.1. ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN NUMUNELER

Çalışmaya Ekim 2023-Şubat 2024 tarihleri arasında Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na MH-2 yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) takip ve tedavi edilen sepsis şüpheli, yoğun bakım ünitesine yatışı sırasında SOFA skorunda iki veya daha fazla artış olan 155 hastadan gönderilen 310 adet kan kültürü örneği (2 set; aerob 1 ve aerob 2) ve eş zamanlı alınmış 155 adet tam kan örneği dahil edildi. Pozitif sinyal veren kan kültür şişelerinden sinyal alındığında; sinyal alınmayan kan kültür şişelerinden ise beşinci günün sonunda sendromik sepsis paneli çalışıldı. İlk testleri negatif sonuçlanmasına rağmen sepsis şüphesi devam eden (ateşi düşmeyen vb..) hastaların beşinci günden sonra yeniden gönderilen kan kültürü şişeleri/seti ve tam kan örnekleri çalışmaya dahil edildi. Aynı hastadan beş gün içinde alınan tekrarlayan kan kültürü ve tam kan örnekleri çalışmaya dahil edilmedi.

3.2. VERİ TOPLAMADA UYGULANAN YÖNTEMLER

Çalışmaya dahil edilen hastaların sepsis tanısı ile ilgili klinik ve laboratuvar verilerinin takibi için hasta araştırma takip formu kullanıldı (Bkz. EK..). Formda; hastaların araştırma sıra numarası, örnek numarası, adı-soyadı, doğum tarihi, cinsiyeti, ön tanısı, MH-2 YBÜ yatış tarihi, vücut ısısı, kalp hızı, solunum hızı, PaCO₂, laktat seviyesi, CRP, prokalsitonin, lökosit sayısı, ESH, kullandığı ilaçları, komorbid hastalıkları, kan kültürü ve tam kan alma tarihi/saati, sinyal verme saati/süresi, Gram boyama sonucu, MALDI-TOF MS sonucu ve sonuç verme tarihi/saati, VITEK 2 antibiyogram sonucu ve sonuç verme tarihi/saati, antibiyogram direnç profili, sepsis

sendromik panel test sonucu ve sonuç verme süresi, YBÜ de yatış süresi, kan kültürü alımı sırasında kullandığı antibiyotik(ler) kaydedildi.

3.3. ÖRNEK TOPLAMADA UYGULANAN YÖNTEMLER

Her hastadan bir tam kan örneği ve en az iki set aerob kan kültürü örneği asepti şartlarına uygun olarak alındı. Kan alınacak bölge; önce 30 saniye %70'lik izopropil alkollü steril gazlı bez ile kuvvetlice ileri geri sürtülerek silindi, 30 saniye kuruması beklendi; sonra %1-2'lik povidon iyot ve steril gazlı bez ile merkezden dışa doğru konsantrik halkalar çizilerek silindi, bir-iki dakika kuruması beklendi. Toplanan uygun hacimdeki kan şişelere aktarıldı; antikoagülanla karışması için şişeler nazıkçe ileri geri karıştırıldı. Kan örnekleri alındıktan sonra laboratuvara transfer edilerek işlemlere başlandı.

3.4. MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI RUTİN KAN KÜLTÜRÜ TANIMLAMA YÖNTEMLERİ

Sepsis şüphesi olan hastaların YBÜ'de BACT-ALERT kültür şişelerine (bioMérieux, Fransa) hastanemizin standart klinik kan kültürü prosedürlerine uygun olarak alınan kan örnekleri (en az iki set olacak şekilde) mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştıktan sonra örnek kabulleri yapıldı. Ardından örnekler inkübasyon için BACT/ALERT 3D (bioMérieux, Fransa) cihazına yüklendi. Eş zamanlı alınan tam kan örnekleri de en geç üç gün içinde çalışılacak şekilde +4°C' de muhafaza edildi. Beş günlük inkübasyon sürecinde pozitif üreme sinyali alınan şişelerden Gram boyama (bioMérieux, Fransa) işlemi gerçekleştirildi ve Gram boya sonucuna göre kliniğe panik değer bildirimi yapıldı. Kültür için katı besiyeri olarak % 5'lik koyun kanlı agar (Bio Cell, Türkiye ve Aklab, Türkiye) kullanıldı. Ekim yapılan plaklar 37°C'de %5 CO₂'li ortamda 24 saat inkübe edildi. Besiyerinde üreyen ve etken kabul edilen mikroorganizmalar için tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testleri gerçekleştirildi. Etken tanımlama, MALDI-TOF teknolojisine sahip VITEK® MS (bioMérieux, Fransa) ile yapıldı. Kanlı agarda üremiş olan bakteri kolonisi öze ile alınarak MALDI-TOF MS slaytlarındaki kuyucuklara yayıldı. Üzerine 1 ml CHCA (a-siyano-4-hidroksisinamik asit) matriks solüsyonu damlatıldı. Slaytlar kuruduktan sonra VITEK® MS (bioMérieux, Fransa) cihazına yerleştirildi ve değerlendirmeye alındı.

Tanımlama sırasında, kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 8739 suşu kontrol suşu olarak kullanıldı. Klinik olarak etken kabul edilen izolatların antibiyotik duyarlılık testleri VITEK® 2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile firma önerilerine uygun olarak çalışıldı. Besiyerindeki kolonilerden 0,5 McFarland standart süspansiyonu hazırlandı ve VITEK kartlarına inoküle edildi. Şüpheli sonuçlar disk difüzyon yöntemi ile manuel olarak teyit edildi. Etken/kontaminant ayırımı KLİMUD (Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği) Kan Dolaşımı Örnekleri Rehberi (62)'nde belirtilen kriterlere göre yapıldı. Etken tanımlama ve raporlama süreleri kaydedildi. Rutin kan kültürü işleyişi devam ederken, bir yandan da pozitif sinyal veren şişeler, inkübasyon süresini dolduran şişeler ve tam kan örnekleri sendromik sepsis paneli ile çalışılmak üzere işleme alındı.

3.5. SENDROMİK SEPSİS PANELİ İLE TANIMLAMA

3.5.1. Nükleik Asit Ekstraksiyonu

Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında Nükleik Asit Ekstraksiyon Kiti (Bioeksen, Türkiye) kullanılarak Zybio EXM3000 (Zybio Inc., Çin) cihazında üretici firma önerilerine uygun olarak nükleik asit izolasyonu gerçekleştirildi.

Kit içeriği

- 1.Ekstraksiyon kartuşu
- 2.Manyetik çubuk kılıfı
- 3.Proteinaz K
- 4.STL-B

Nükleik asit izolasyon prosedürü

- 1.Ekstraksiyon kartuşları kartuş standına yerleştirildi.
- 2.Kartuşların bir numaralı kuyularına 15 µL Proteinaz K pipetlendi.
- 3.Daha sonra üzerine 200 µL tam kan örneği pipetlendi (Kan kültür şişelerinden çalışılmadan önce 25 µL örnek, 200 µL STL-B ile karıştırıldı. Vorteks (Biosan, Letonya) cihazında 10 sn karıştırıldıktan sonra 200 µL örnek alınarak kartuşa pipetlendi).
- 4.Kartuş standı cihaza yerleştirildi.

5.Manyetik çubuk kılıfları cihazda ilgili bölüme yerleştirildi.

6.Cihaz çalıştırıldı.

Kan kültür örnekleri için dokuz dakikalık ZYBIO-B-200 izolasyon programı kullanılırken, tam kan örnekleri için 16 dakikalık ZYBIO-CS-B-200 izolasyon programı kullanıldı. İşlem sonucunda kartuşun altı numaralı kuyusunda 80-100 µL izolat elde edildi.

Sepsis etkenlerinin ve antibiyotik direnç genlerinin analizi Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Panel (Bioeksen, Türkiye) kiti kullanılarak CFX96 Touch Real-Time PCR (BIO-RAD, ABD) cihazında gerçekleştirildi. Test kitinin ve striplerin içeriği Tablo 5 ve Tablo 6 'da gösterilmiştir.

Tablo 5. Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Panel Kit İçeriği

SE Strip	Spesifik Nükleik Asit Amplifikasyonu ve Tespiti	96 adet SE strip
2x qPCR Mix	qPCR testi için optimize edilmiş kullanıma hazır mix	96x 90 µL
NTC	Negatif Kontrol	1x1000 µL
PC-SE	Pozitif Kontrol (PC)	1x500 µL

Tablo 6. Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Panel Strip Kuyu İçeriği

Kuyu İçeriği	Kanal	Hedef
SE		
A: SPCV Oligo Mix	FAM	<i>Staphylococcus aureus</i>
	HEX	<i>Pseudomonas spp.</i>
	ROX	vanA - Vankomisin direnci
	CY5	<i>Candida krusei</i>
B: CRVS Oligo Mix	FAM	<i>Candida glabrata</i>
	HEX	İnsan (İnternal Kontrol-IC); RNase P
	ROX	vanB - Vankomisin direnci

Kuyu İeriği	Kanal	Hedef
	CY5	<i>Staphylococcus spp.</i>
C: KPAC Oligo Mix	FAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	HEX	<i>Candida albicans</i>
	ROX	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	CY5	<i>Acinetobacter baumannii</i>
D: HKOC Oligo Mix	FAM	<i>Haemophilus influenzae</i>
	HEX	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	ROX	<i>Candida parapsilosis</i>
	CY5	OXA-48 - Karbapenem direnci
E: CRE Oligo Mix	FAM	KPC - Karbapenem direnci
	HEX	NDM - Karbapenem direnci
	ROX	VIM - Karbapenem direnci
	CY5	IMP - Karbapenem direnci
F: LEMC Oligo Mix	FAM	<i>Listeria monocytogenes</i>
	HEX	<i>Enterococcus faecalis</i>
	ROX	mecA+C - Metisilin direnci
	CY5	<i>Candida tropicalis</i>
G: SES Oligo Mix	FAM	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	HEX	X
	ROX	<i>Enterobacterales</i>
	CY5	<i>Streptococcus spp.</i>
H: ENES Oligo Mix	FAM	<i>Enterococcus faecium</i>
	HEX	<i>Escherichia coli</i>
	ROX	<i>Neisseria meningitidis</i>
	CY5	<i>Streptococcus pneumoniae</i>

3.5.2. Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Paneli ile PZR Reaksiyonun Kurulması

1. Test edilecek her numune için Tablo 6’da gösterilen şekilde bir SE strip (0,2 ml’lik sekiz kuyucuklu beyaz şerit) kullanıldı. Bununla birlikte tüm çalışmalarda birer adet NTC ve PC stripleri de çalışmaya eklendi. Stripler reaktif eklenmeden önce santrifüjlendi.

2. Temiz PZR odasında SE striplerinin her bir kuyucuğuna 10 µL qPCR mix pipetlendi.

3. Daha sonra Sınıf IIA biyogüvenlik kabininde bir SE sribinin her kuyucuğuna 5 µL NTC pipetlendi. Kalan SE striplerine, kuyucukların her birine bir örnek olacak şekilde 5 µL ekstrakte edilen nükleik asit örneği pipetlendi. Son SE sribinin her kuyucuğuna ise 5 µL PC-SE pipetlendi.

4. Tüpler şerit kapak ile kapatılarak spin santrifüj cihazında (Frontier, Ohaus, ABD) santrifüjlendi.

5. Stripler CFX96 Touch Real-Time PCR (BIO-RAD, ABD) cihazına yerleştirildi.

6. Reaksiyon için uygun ısı döngü profili oluşturuldu ve çalışma başlatıldı.

Reaksiyon kurulum içeriği Tablo 7’de özetlendi. Amplifikasyon işlemi Tablo 8’de belirtilen ısı-döngü protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi.

Tablo 7. Reaksiyon Kurulum İçeriği

Reaksiyon Tipi	Kullanılacak Strip		
Hasta Numunesi	SE Rxn Her hasta için birer strip	2XqPCR Mix	90 µl
		Örnekten elde edilen nükleik asit ekstraktı	45 µl
Negatif Kontrol (NTC)	SE Rxn Her çalışma için birer strip	2XqPCR Mix	90 µl
		NTC	45 µl
Pozitif Kontrol (PC)	SE Rxn Her çalışma için birer strip	2XqPCR Mix	90 µl
		PC-SE	45 µl
Kuyucuk içeriği 5 µl, Kuyucuklara dağıtılacak miktar 15 µl (10 µl qPCR Mix, 5 µl nükleik asit ekstraktı/NTC/PC-SE) Toplam reaksiyon hacmi 20 µl			

Tablo 8. GZ-PZR Isı Döngü Protokolü

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
Ters Transkripsiyon	1 döngü	52 °C	3 dk
Pre-inkübasyon	1 döngü	95 °C	10 sn
Denatürasyon	12 Touchdown Döngüsü: Döngü başına bağlanma sıcaklığında 1°C azalma	95 °C	1 sn
Bağlanma/Uzama		67-56 °C	15 sn
Denatürasyon	30 döngü	95 °C	1 sn
Bağlanma/Uzama		55 °C	15 sn
Tespit (Okuma)		FAM/ HEX/ ROX/ CY5	

Tablo 9. Bio-Speedy® Sepsis qPCR MX-30S panel hedefleri

Gram Pozitif Bakteri	Gram Negatif Bakteri	Mantar	Direnç Geni
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida glabrata</i>	Van A- Vankomisin direnci
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida tropicalis</i>	Van B- Vankomisin direnci
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Candida krusei</i>	Mec A+C - Metisilin direnci
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	OXA-48 - Karbapenem direnci
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	KPC- Karbapenem direnci
<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		NDM - Karbapenem direnci
<i>Streptococcus spp</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>		VIM - Karbapenem direnci
	<i>Neisseria meningitidis</i>		IMP- Karbapenem direnci
	<i>Enterobacterales</i>		
	<i>Pseudomonas spp</i>		

OXA-48: Oksasilinaz-48, KPC: *Klebsiella pneumoniae* karbapenemazları, NDM :New Delhi Metallo-beta-laktamaz, VIM: Verona İntegron-Kodlu Metallo-beta-laktamaz, IMP: İmipenemaz Metallo-beta-laktamaz

3.5.3. Sonuçların Değerlendirilmesi

Sonuç dosyaları, üretici tarafından sağlanan “Sigmoida” yazılımı ile açıldı. Analizler yazılım tarafından otomatik olarak gerçekleştirildi. Yazılım ile elde edilen çalışma sonuçların yorumu Tablo 10’da gösterildi.

Pozitif: Test edilen örnek, test edilen etken için düşük pozitif, pozitif veya yüksek pozitifdir.

Negatif: Test edilen örnek, test edilen etken için negatiftir.

Kontaminasyon: Herhangi bir NTC test kanalında $Cq \leq 30$ değerin elde edilmesi. Analiz tekrar edilmelidir.

Geçersiz: IC ve diğer tüm hedefler “Tespit Edilmedi” ise aynı hastadan yeni bir numune ile test tekrar edilmelidir.

Tablo 10. Test Sonuçlarının Yorumlanması

Etken	IC	Sonuçların Yorumlanması	
Pozitif (+)	Pozitif (+) veya Negatif (-)	Sonuçlar GEÇERLİ, Etken tespit edildi.	$26 < Cq \leq 30$ Düşük Pozitif $16 < Cq \leq 26$ Pozitif $Cq \leq 16$ Yüksek Pozitif
Negatif (-)	Pozitif (+)	Sonuçlar GEÇERLİ, Etken tespit edilemedi.	

Tablo 11. Kit Kontrollerinin Beklenen Performansı

Kontrol Türü	Amacı	Beklenen Sonuç ve Cq Değeri	
		IC(HEX)	Etken
NTC	qPZR sırasında kontaminasyon kontrolü	Tespit edilmedi (Cq yok)	Tespit edilmedi (Cq yok)
PC	Reaktif stabilite kontrolü	Tespit edildi ($Cq \leq 30$)	Tespit edildi ($Cq \leq 30$)
IC	Örneklerde nükleik asit ekstraksiyonu ve qPZR'nin kontrolünü izlemek için	Tespit edildi ($Cq \leq 30$) Eğer IC “Tespit edilmedi” ise etken Cq 'sunu kontrol edin.	Etken sonuç yorumlama kriterlerine göre “Tespit edildi” ise IC geçerlidir.

Bir numunede birden fazla parametre (ilaç direnç genleri hariç) pozitif sonuç verdiğinde:

- En düşük Cq veren parametre belirlendi (Min Cq).
- Diğer parametrenin Cq değeri - Min $Cq < 7$ ise her iki parametre için pozitif sonuç verildi.
- Diğer parametrenin Cq değeri - Min $Cq \geq 7$ ise Cq değeri yüksek olan parametre için negatif sonuç verildi.

İlaç gen hedefleri (*VanA*, *VanB*, *OXA-48*, *KPC*, *NDM*, *VIM*, *IMP*, *mecA/mecC*), *C.krusei*, *C. glabrata*, *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C. tropicalis* gen hedefleri için:

- Cq değeri ≤ 26 ise pozitif olarak rapor edildi.
- Cq değeri > 26 ise negatif olarak rapor edildi.

Diğer tüm gen hedefleri için:

- Cq değeri ≤ 23 ise pozitif olarak rapor edildi
- Cq değeri > 23 ise negatif olarak rapor edildi

“Threshold döngü sayısını” (Cq) hesaplamak için üretici tarafından önerilen eşik (threshold) seviyesi CFX96 touch TM cihazı için 200 RFU (Relative Fluorescence Unit)’dur. Amplifikasyon sonrasında, Sigmoida yazılımı yanında, tüm amplifikasyon eğrilerinin şekilleri incelendi ve cihaz yazılımı tarafından numuneye bir Cq değeri atanmışsa ya da eğri sigmoidal ise Cq değeri son değerlendirme için kullanıldı. Sigmoidal olmayan eğriler negatif olarak değerlendirildi.

Kan kültürü şişesi örneklerinden yapılan multipleks GZ PZR ve tam kan örneklerinden direkt multipleks GZ PZR sonuçları ile rutin bakteriyolojik tanımlama yöntemleri ile elde edilen sonuçlar ve her üç yöntemin raporlama süreleri not edilerek karşılaştırıldı. Konvansiyonel yöntemler esas alınarak multipleks GZ PZR yönteminin sepsiste erken tanıya katkısı değerlendirildi.

3.5.4. İstatistiksel Analiz

Çalışma verileri, günlük olarak Microsoft Excel 2024 programına kaydedildi. Elde edilen veriler IBM SPSS Statistics (Statistical Package for Social Sciences) versiyon 22 programı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak analiz edildi. Sepsis saptanan hastaların demografik ve klinik özellikleri ile ilgili tanımlayıcı istatistikler sunuldu. Çalışmada; sıklık ve yüzde dağılımları değerlendirildi. Karşılaştırılan yöntemlerin raporlama süreleri incelendi; raporlama süre dağılımının normalliği araştırıldı; her bir yöntem için raporlama süresi aralığı ve ortalaması sunuldu. Konvansiyonel yöntemler ve değerlendirme kriterleri referans alınarak tam kandan ve kan kültürü şişelerinden yapılan GZ PZR yönteminin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD) ve doğruluk oranları aşağıdaki tablo ve formüllere göre değerlendirildi. Aynı zamanda kan kültürü ve kan kültürü

şışelerinden yapılan sepsis panel yöntemi etken bazında karşılaştırılarak, duyarlılık ve özgüllük değerleri belirlendi.

	Geçerli Referans Test		
Değerlendirilen Test		Pozitif	Negatif
	Pozitif	a (Gerçek Pozitif)	b (Hatalı Pozitif)
	Negatif	c (Hatalı Negatif)	d (Gerçek Negatif)

$$\text{Duyarlılık} = a/(a+c) \times 100$$

$$\text{Özgüllük} = d/(b+d) \times 100$$

$$\text{PPD} = a/(a+b) \times 100$$

$$\text{NPD} = d/(c+d) \times 100$$

$$\text{Doğruluk (geçerlilik)} = a+d / (a+b+c+d) \times 100$$

Sepsis tanısında kullanılan yöntemler arasındaki farkın istatistiksel yönden anlamlılığı, Ki-kare veya Fisher's exact test ile Student t testi kullanılarak değerlendirildi. Verilerin analizinde p değerinin 0,05'in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Popülasyonu

Çalışmamız Ekim 2023-Şubat 2024 tarihleri arasında dört aylık bir süreçte prospektif olarak gerçekleştirildi. Sepsis ön tanısı ile MH-2 yoğun bakım ünitesinde tedavi gören 61 (%39) kadın, 94 (%61) erkek toplam 155 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların yaş aralığı 18-93; yaş ortalaması 62, medyanı 69 idi. Yaş aralıklarına göre dağılımı Tablo 12’de gösterildi.

Tablo 12. Hastaların yaş aralıklarına göre dağılımı

Yaş Aralıkları	n	%
18-35	28	18
36-65	41	26
66-80	60	39
>80	26	17

Sepsis ön tanısı düşünülen hastaların altta yatan enfeksiyon kaynakları incelendiğinde sıklık sırasına göre ilk ikisi kaynağı bilinmeyen sepsis (n=91; %59) ve alt solunum yolu enfeksiyonu (n=44; %28) olarak tespit edildi (Tablo 13).

Tablo 13. Altta yatan enfeksiyon kaynakları

Enfeksiyon Kaynağı	n	%
Kaynağı bilinmeyen	91	59
Alt solunum yolu	44	28
Üriner sistem	10	7
İntraabdominal	5	3
İmmüsupresyon	3	2
Deri ve yumuşak doku	2	1

Sepsis ön tanılı olan hastaların klinik bulguları Tablo 14’de verilmiştir.

Tablo 14. Sepsis parametreleri sınır değerleri ve hastaların dağılımı (n=155)

Klinik Bulgular	Alt sınır değer	n	Üst sınır değer	n	Ortalama değer	Minimum-maximum değer
Vücut Sıcaklığı	<36 °C	1	>38 °C	3	36,5 °C	36-39 °C
Kalp hızı	90-100/dk	28	>100/dk	55	96/dk	54-155/dk
Solunum sayısı	<12/dk	5	>20/dk	40	19/dk	10-40/dk
PaCO ₂	<35 mmHg	46	>45 mmHg	37	40 mmHg	21,9-62,9 mmHg
Laktat	>2 mmol/L	45	-	-	2,1 mmol/L	Max:31,1mmol/L
CRP	>5 mg/L	151	-	-	136 mg/L	Max:333,2mg/L
Prokalsitonin	>0,16 µg/ml	129	-	-	16 µg/ml	Max: 465 µg/ml
Lökosit	<4000/mm ₃	7	>12000/mm ₃	61	12,34x10 ³ /mm ³	0,36-112x10 ³

Not: Tek sınır değeri olan parametrelerin maximum değerleri verilmiştir.

Sepsis ön tanılı hastaların kan örneği alımı sırasında 6 (%4) hastanın antibiyotik almadığı; 149 (%96) hastanın ise antibiyotik tedavisi altında olduğu tespit edildi. Takip edilen hasta grubunda, yoğun bakım ünitesinde ortalama yatış süresi 40 gündür (min. 1- max. 145). Hastaların %48'i (n=75), yoğun bakımda yatarken hayatını kaybetti. Yirmi iki (%14) hasta kısmi iyileşme göstererek taburcu edildi, geriye kalan hasta grubunun yoğun bakım ihtiyacı sona erdikten sonra serviste takiplerine devam edildi.

4.2. Laboratuvar Bulguları

4.2.1. Kan Kültürü Sonuçları

Takip edilen kan kültür şişelerine konvansiyonel yöntemlerin ilk basamağı olan Gram boyama işlemi yapıldı. Kan kültürü şişelerinden (Aerob 1) yapılan Gram boyama sonuçlarına göre 74 (%47)’ünde mikroorganizma görülmedi. Kırk dördünde gram pozitif kok, 23’ünde gram negatif basil, 10’unda maya, dördünde gram pozitif difteroid basil görüldü.

Kan kültürü şişelerinden (Aerob 2) yapılan Gram boyama sonuçlarına göre 69 (%44,5)’unda mikroorganizma görülmedi. Kırk altısında gram pozitif kok, 25’inde gram negatif basil, altısında maya hücresi, dördünde gram pozitif difteroid basil,

üçünde gram pozitif kok ve gram negatif basil, birinde maya hücresi ve gram pozitif kok, birinde maya hücresi ve gram negatif basil görüldü (Tablo 15).

Tablo 15. Kan kültürü şişelerinden yapılan Gram boyama sonuçları

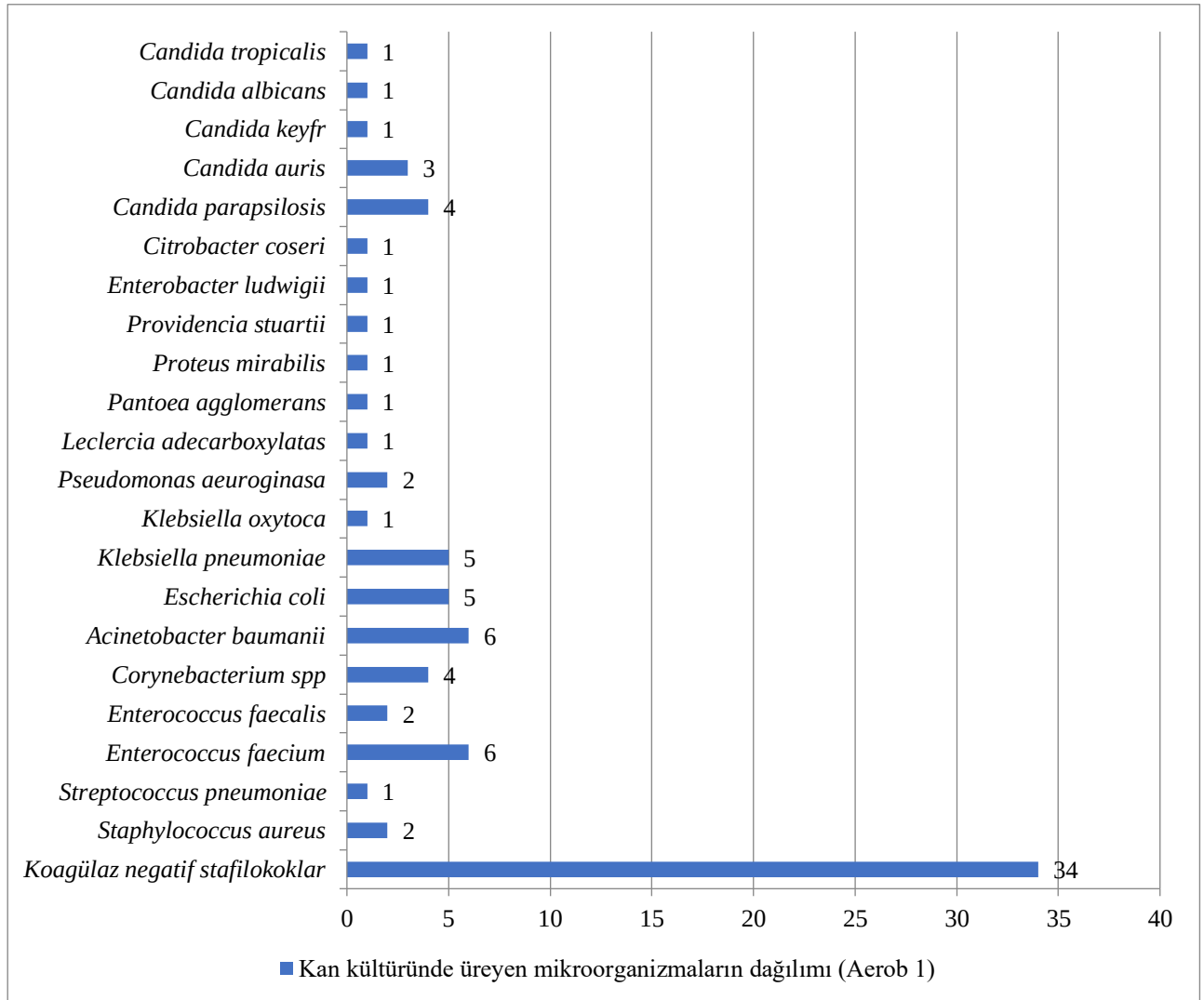
Morfoloji	Aerob 1 (n;%)	Aerob 2 (n;%)	Toplam (n;%)
Mikroorganizma görülmedi	74 (%47,74)	69 (%44,52)	143(%46)
Gram pozitif kok	44 (%28,39)	46 (%29,68)	90(%29)
Gram negatif basil	23 (14,84)	25 (%16,13)	48 (%15,4)
Gram pozitif difteroid basil	4 (%2,58)	4 (%2,58)	9 (%2,9)
Maya hücreleri	10 (%6,45)	6 (%3,87)	16 (%5,1)
Gram pozitif kok ve Gram negatif basil	-	3 (%1,94)	3 (%1)
Maya hücresi ve Gram pozitif kok	-	1 (%0,64)	1 (%0,3)
Maya hücresi ve Gram negatif basil	-	1 (%0,64)	1(%0,3)
Toplam (n)	155	155	310

Sinyal verme süreleri gram negatif basil, gram pozitif kok, gram pozitif difteroid basil ve maya hücreleri için sırasıyla ortalama 11,5 saat, 19 saat, 52 saat ve 21,5 saat olarak tespit edildi.

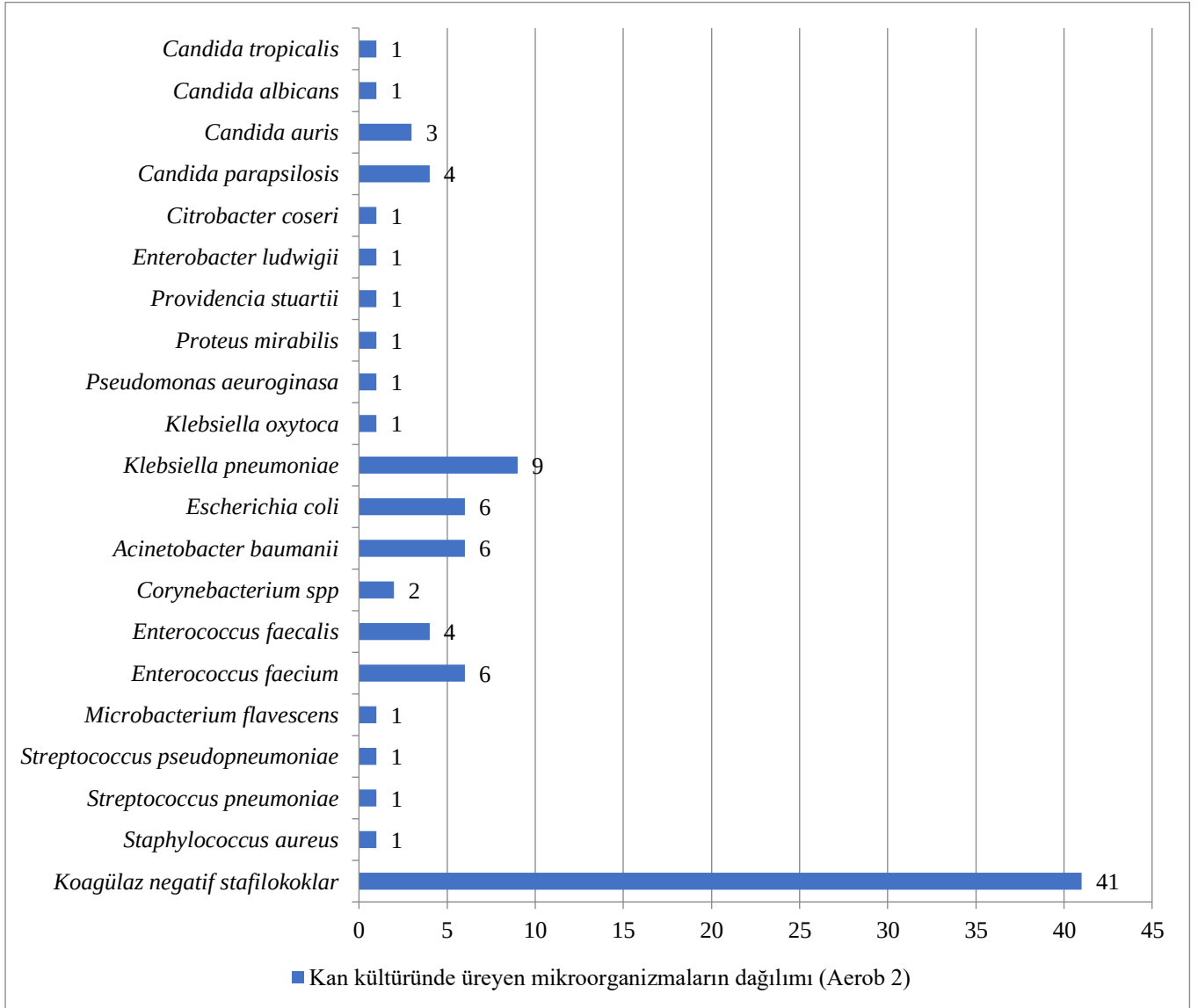
Üreme sonuçları değerlendirildiğinde; Aerob 1 kan kültürü şişelerinden yapılan ekimlerin 74 (%47,7)’ünde üreme olmadı. Yetmiş sekiz örnekte (%50,3) kan kültür şişesinde tek etken, üç örnekte (%2) kan kültür şişesinde iki etken üredi. Sıklık sırasına göre ilk beş etken KNS (34;%42), *A. baumannii* (6; %7), *E. faecium*(6; %7), *E. coli* (5;%6) ve *K. pneumoniae* (5;%6) olarak izole edildi (Tablo 16).

Aerob 2 kan kültürü şişelerinden yapılan ekimlerin ise 69 (%44,5)’unda üreme olmadı. Yetmiş dokuz örnekte tek etken, yedi örnekte iki etken üredi. Sıklık sırasına göre ilk beş etken KNS (41;%48), *K. pneumoniae* (9;%10,5), *A. baumannii* (6; %7), *E. coli* (6;%7) ve *E. faecium* (6,%7) olarak izole edildi. Çalışmaya alınan 310 kan kültür şişesinden toplam 177 etken izole edildi. Patojen dağılımı Tablo 16 ve Tablo 17’de, kan kültüründe üreyen KNS izolatlarının dağılımı Tablo 18’de verilmiştir. Kan kültürü şişelerindeki polimikrobiyal üremelerin dağılımı ise Tablo 19’da verilmiştir.

Tablo 16. Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların dağılımı (Aerob 1)



Tablo 17. Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların dağılımı (Aerob 2)



Tablo 18. Kan kültüründe üreyen KNS izolatlarının dağılımı

İzolat	n (Aerob 1)	n (Aerob 2)
<i>Staphylococcus hominis</i>	13	19
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9	13
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	8	8
<i>Staphylococcus capitis</i>	2	1
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i>	1	-

Aerob 1’de bir izolatta tür düzeyinde tanımlama yapılamamıştır.

İki etken üreyen Aerob 1 şişelerinin birinde *E. faecium* + *S. hominis*, birinde *A.baumanii* + *E. faecalis*, birinde de *E. faecium* + *S. haemolyticus* birlikteliği görüldü. İki etken üreyen Aerob 2 şişelerinin birinde *E. faecium* + *S. haemolyticus*, birinde *E. faecium* + *S. hominis*, birinde *E. faecalis* + *K. pneumoniae*, birinde *C. auris* + *E. faecalis*, birinde *A. baumanii* + *S. haemolyticus*, birinde ise *A. baumanii* + *E. faecalis* birlikteliği görüldü (Tablo 19).

Tablo 19. Kan kültürü şişelerindeki polimikrobiyal üreme durumu

Aerob 1	Aerob 2
<i>E. faecium</i> ve <i>S. haemolyticus</i>	<i>E. faecium</i> ve <i>S. haemolyticus</i>
<i>A.baumanii</i> ve <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> ve <i>S. hominis</i>
<i>E. faecium</i> ve <i>S. hominis</i>	<i>E. faecalis</i> ve <i>K. pneumoniae</i>
	<i>C. auris</i> ve <i>E. faecalis</i>
	<i>C. parapsilosis</i> ve <i>S. hominis</i>
	<i>A. baumanii</i> ve <i>S. haemolyticus</i>
	<i>A. baumanii</i> ve <i>E. faecalis</i>

Kan kültüründe üreyen cilt flora bakterilerinin etken-kontaminant ayırımında KLİMUD Kan Dolaşım Örnekleri Rehberi'ne göre en az iki sette üreyen mikroorganizmalar etken, tek sette üreyen mikroorganizmalar ise kontaminant olarak değerlendirildi. Kan kültürlerindeki kontaminasyon oranı %13,8 (43/310) olarak tespit edildi. Kontaminant olarak izole edilen mikroorganizmalar sırasıyla; *S. hominis* (n=15), *S. epidermidis* (n=9), *S.haemolyticus* (n=9), *Corynebacterium* spp. (n=6), *S. capitis* (n=3), *S. pettenkoferi* (n=1), *Microbacterium flavescens* (n=1) olarak tespit edildi.

4.2.2. Sepsis Panel Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen hastalardan 155 tam kan örneği ve 310 kan kültürü şişesi örneği Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Panel (Bioeksen, Türkiye) kiti ile çalışıldı.

4.2.2.1. Tam kan- Sepsis panel

Sepsis ön tanılı hastalardan alınan 155 tam kan örneğinde çalışılan sepsis panel testi ile; 32 (%20,6) hasta örneğinde pozitif sonuç elde edildi. Yirmi yedi örnekte tek etken, dört örnekte iki etken (*S. aureus* + *K. pneumoniae*, Enterobacterales + *Staphylococcus spp.*, Enterobacterales + *E. coli*, *K. pneumoniae* + Enterobacterales) bir örnekte üç etken (Enterobacterales + *Pseudomonas spp.* + *P. aeruginosa*) saptandı. En sık saptanan etkenler; *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *E. coli* ve *C. parapsilosis* olarak tespit edildi (Tablo 20).

Tablo 20. Tam kandan yapılan sepsis paneli ile elde edilen etken dağılımı

Tam kan- Sepsis panel sonucu	n
<i>K. pneumoniae</i>	8
<i>E. coli</i>	3
<i>A. baumannii</i>	1
Enterobacterales	9
<i>Pseudomonas spp.</i>	1
<i>P. aeruginosa</i>	1
<i>E. faecium</i>	1
<i>S. aureus</i>	1
<i>Streptococcus spp.</i>	3
<i>S. pneumoniae</i>	3
<i>Staphylococcus spp</i>	1
<i>C. parapsilosis</i>	4
<i>C.tropicalis</i>	2

Tam kandan çalışılan sendromik sepsis paneli ile altın standart yöntem olan kan kültürü sonuçları etkenleri saptama yönünden karşılaştırıldığında, 15 örnekte kan kültüründe üreme vardı ve panel sonuçları da bununla uyumlu olarak pozitif. Altmış sekiz örnekte kan kültüründe üreme olmadı ve panel sonuçları da bununla uyumlu olarak negatifti. Elli beş örnekte kan kültüründe üreme olurken, panel sonucu negatif bulundu. On yedi örnekte ise kan kültüründe üreme olmazken, panel sonuçları pozitif. Sepsis panel testinin duyarlılık oranı %21,43, özgüllük oranı % 80, PPD % 46,88, NPD % 55,28 ve doğruluk oranı % 53,55 olarak bulundu. İki yöntem arasında

etkenleri saptama yönünden istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı (p değeri=0.985) (Tablo 21).

Tablo 21. Tam kan ile kan kültürü-sepsis panel yöntemlerinin etkenleri saptama yönünden karşılaştırılması

	Kültür			
		Üreme var	Üreme yok	Toplam
	Pozitif	15	17	32
	Negatif	55*	68	123
	Toplam	70	85	155

Duyarlılık % 21,43 Özgüllük % 80 PPD % 46,88 NPD % 55,28 Doğruluk % 53,55	p değeri=0.985
---	---

*Kan kültüründe *Pantoea agglomerans* (n=1), *Microbacterium flavescens* (n=1), *Corynebacterium spp.*(n=6), *C. keyfi* (n=1), *C. auris* (n=3) üremesi saptanan etkenler panelde yer almadıkları için GZ PZR ile negatif olarak raporlananlar grubuna dahil edilmiştir.

Tam kandan çalışılan sepsis paneli ile tespit edilen direnç genleri ve kan kültürü antibiyogram sonuçları karşılaştırıldı. Direnç genlerinin dağılımı Tablo 22’de gösterilmiştir. Yedi örnekte sepsis paneli ile direnç geni saptandı. Bunlardan dört tanesi (%57) antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre uyumluydu. Üç örnekte ise kültür ile uyumsuzluk olduğu için antibiyogram sonuçları açısından değerlendirme yapılamadı (Tablo 23).

Tablo 22. Tam kandan yapılan sepsis paneli ile tespit edilen direnç genlerinin dağılımı

Tam kan- Sepsis panel direnç sonucu	n
OXA-48 - Karbapenem direnci	1
NDM - Karbapenem direnci	1
KPC - Karbapenem direnci	1
OXA-48 + NDM - Karbapenem direnci	3
VIM - Karbapenem direnci	1

Tablo 23. Tam kan-Sepsis panel direnç geni ve kan kültürü antibiyogram direnç sonuçlarının karşılaştırılması (Antimikrobiyal direnç saptanmasında VITEK-2 ile sepsis panel sonuçlarının karşılaştırılması)

Örnek No	Kültür-Direnç	Sepsis panel-Direnç	Uyum (Direnç Açısından)
24....62	<i>P.stuartii</i> - MP orta duyarlı, IMP ve ETP dirençli	<i>C.parapsilosis</i> - OXA-48 pozitif	+
25....19	<i>K. pneumoniae</i> - MP, IMP ve ETP dirençli	<i>K. pneumoniae</i> pozitif, OXA-48 ve NDM pozitif	+
25....84	<i>K. pneumoniae</i> - MP, IMP ve ETP dirençli	<i>K. pneumoniae</i> pozitif, OXA-48 ve NDM pozitif	+
25....02	Kültürde <i>A.baumannii</i> - MP, IMP dirençli	Tam kan negatif, OXA-48 ve NDM pozitif	+
25....29	Kültürde KNS	<i>K. pneumoniae</i> pozitif, KPC pozitif	Değerlendirme yapılamadı
25....72	Kültürde üreme yok	<i>E.coli</i> düşük pozitif, NDM düşük pozitif	Değerlendirme yapılamadı
25....47	Kültürde <i>C.auris</i>	Tam kan negatif, VIM düşük pozitif	Değerlendirme yapılamadı

MP:Meropenem, IMP:İmipenem, ETP:Ertapenem

4.2.2.2. Kan kültürü- Sepsis panel

Kan kültür şişelerinden çalışılan GZ PZR esaslı sendromik sepsis paneli ile altın standart yöntem olan kan kültürü sonuçları etkenleri saptama yönünden karşılaştırıldı. Aerob 1 kan kültürü şişelerinde 70 örnekte kan kültüründe üreme vardı ve panel sonuçları da bununla uyumlu olarak pozitif. Altmış sekiz örnekte kan kültüründe üreme olmadı ve panel sonuçları da bununla uyumlu olarak negatifti. On bir örnekte kan kültüründe üreme olurken, panel sonucu negatif bulundu. Altı örnekte ise kan kültüründe üreme olmazken, panel sonuçları pozitif. Aerob 2 kan kültürü şişelerinde 77 örnekte kan kültüründe üreme vardı ve panel sonuçları da bununla uyumlu olarak pozitif. Altmış beş örnekte kan kültüründe üreme olmadı ve panel sonuçları da bununla uyumlu olarak negatifti. Dokuz örnekte kan kültüründe üreme

olurken, panel sonucu negatif bulundu. Dört örnekte ise kan kültüründe üreme olmazken, panel sonuçları pozitif.

Kan kültürü şişelerine total (aerob 1 + aerob 2) olarak bakıldığında 147 örnekte kan kültüründe üreme vardı ve panel sonuçları da bununla uyumlu olarak pozitif. Yüz otuz üç örnekte kan kültüründe üreme olmadı ve panel sonuçları da bununla uyumlu olarak negatif. Yirmi örnekte kan kültüründe üreme olurken, panel sonucu negatif bulundu. On örnekte ise kan kültüründe üreme olmazken, panel sonuçları ise pozitif. Duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD, doğruluk oranları; Aerob 1, Aerob 2 ve total olarak ayrı ayrı hesaplandı. Sırasıyla duyarlılık %86,41, %89,53, %88,02; özgüllük %91,9, %94,2, %93; PPD %92,1, %95,06, %93,63; NPD %86,08, %87,84, %86,92; doğruluk %89,03, %91,61, %90,3 olarak bulundu. (Tablo 24, Tablo 25, Tablo 26). Etken saptama açısından karşılaştırıldığında üçünde de istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu (p değeri <0,05).

Tablo 24. Kan kültürü ve kan kültürü-sendromik sepsis paneli ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması-1

Kan Kültürü (Aerob 1)				
Sepsis paneli (Aerob 1)		Üreme var	Üreme yok	Toplam
	Pozitif	70	6	76
	Negatif	11	68	79
	Toplam	81	74	155
Duyarlılık %86,41 Özgüllük % 91,9 PPD %92,1 NPD %86,08 Doğruluk %89,03				

p<0,05

Tablo 25. Kan kültürü ve kan kültürü-sendromik sepsis paneli ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması -2

	Kan Kültürü (Aerob 2)			
Sepsis paneli (Aerob 2)		Üreme var	Üreme yok	Toplam
	Pozitif	77	4	81
	Negatif	9	65	74
	Toplam	86	69	155

Duyarlılık %89,53

Özgüllük % 94,2

PPD % 95,06

NPD % 87,84

Doğruluk % 91,61

p<0,05

Tablo 26. Kan kültürü ve kan kültürü-sendromik sepsis paneli ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması-3

	Kan Kültürü (Aerob 1+ Aerob 2)			
Sepsis paneli (Aerob 1+ Aerob 2)		Üreme var	Üreme Yok	Toplam
	Pozitif	147	10*	157
	Negatif	20	133	153
	Toplam	167	143	310

Duyarlılık % 88,02

Özgüllük % 93

PPD % 93,63

NPD % 86,92

Doğruluk % 90,3

p<0.05

*Tekrarlanan kültürlerinde üreme olmadı.

Kültürde üreme olmayıp panel ile pozitiflik saptanan 10 örneğin tekrarlanan kan kültürü ekimlerinde üreme olmadı.

Kan kültürü- kan kültürü sepsis panel yöntemlerinin etken bazında karşılaştırılması, duyarlılık ve özgüllük değerleri Tablo 27'de verilmiştir. Gram pozitif etkenlerde duyarlılık %83-100 arasında, özgüllük %96-100 arasında; Gram negatif

etkenlerde duyarlılık %92-100, özgüllük %96-100 arasında; mayalarda duyarlılık %0-100, özgüllük %98-100 arasında bulundu.

Tablo 27. Etken bazında kan kültürü- kan kültürü sepsis panel yöntemlerinin karşılaştırılması; duyarlılık ve özgüllük değerleri

Mikroorganizma	Kan kültürü (+) ve panel (+) (n)	Sadece panel (+) (n)	Sadece kan kültürü (+) (n)	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
KNS	62	4	13	%83	%97
<i>S. aureus</i>	3	0	0	%100	%100
<i>S. pneumoniae</i>	2	0*	0	%100	%100
<i>E. faecium</i>	12	5	0	%100	%96,4
<i>E. faecalis</i>	6	2	0	%100	%98,5
<i>K. pneumoniae</i>	14	6	0	%100	%96
<i>K. oxytoca</i>	2	0	0	%100	%100
<i>E. coli</i>	11	3	0	%100	%98
<i>A. baumannii</i>	11	1	1	%92	%99
<i>Pseudomonas spp.</i>	3	4	0	%100	%97
<i>C. albicans</i>	2	1	0	%100	%99
<i>C. parapsilosis</i>	7	2	0	%100	%98,5
<i>C. tropicalis</i>	2	0	0	%100	%100
<i>C. krusei</i>	0	3	0	%0	%98

*İki örnekte panel ile *Streptococcus spp.* pozitifliği saptandı, kültürde üreme olmadı

Sadece panel ile *Staphylococcus spp.* pozitif bulunan dört örneğin kültür sonuçları aşağıda verilmiştir.

1. Kültür sonucu; *C. parapsilosis*- panel sonucu; *Staphylococcus spp.* (yüksek pozitif), *C. parapsilosis* (pozitif)
2. Kültür sonucu; *P. aeruginosa*- panel sonucu; *Pseudomonas spp.* (yüksek pozitif), *Staphylococcus spp.* (yüksek pozitif), *P. aeruginosa* (pozitif)
3. Kültür sonucu; *K. oxytoca*- panel sonucu; *Staphylococcus spp.* (pozitif), *K. oxytoca* (pozitif)
4. Kültür sonucu; *C. auris* -panel sonucu; *Staphylococcus spp.* (pozitif)

Kan kültüründe üremesi saptanan *Pantoea agglomerans*, *Microbacterium flavescens*, *Corynebacterium spp.*, *C. keyfr* ve *C. auris* çalışılan sepsis paneli ile saptanamamaktadır.

Kan kültüründe üreyen *Citrobacter coseri*, *Enterobacter ludwigii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *Leclercia adedecarboxylatas* panel ile tür düzeyinde saptanamamakta; ancak Enterobacterales ailesi olarak rapor edilmektedir.

On beş örnekte (%4,8) kan kültürü tanımlamasıyla panel sonuçları arasında uyumsuzluk bulundu (Tablo 28). Uyumsuz olan örneklerin %53'ünü (n=8) KNS'ler oluşturdu. Uyumsuz olarak tanımlanan dört örnekte polimikrobiyal üreme vardı ve KNS'ler panel ile saptanamazken eşlik eden diğer etkenler tespit edildi.

Tablo 28. Rutin kan kültürü tanımlama ile uyumsuz panel sonuçları

Örnek No	Standart Kültür Tanımlama Sonuçları	Panel tanımlama sonuçları
25....57	<i>C. parapsilosis</i>	Negatif
25....61-1	<i>S. epidermidis</i>	Negatif
25....81	<i>S.epidermidis</i>	Negatif
25....61-2	<i>S. hominis</i>	Negatif
24....04	<i>S. hominis</i>	Negatif
24....64	<i>S. hominis</i>	Negatif
25....08	<i>S. hominis</i>	Negatif
24....12-1	<i>S. hominis</i>	Negatif
24....12-2	<i>S. hominis</i>	Negatif
24....44	<i>S. pseudopneumoniae</i>	Negatif
25....30-1	<i>A. baumannii</i>	<i>E. faecium</i> Yüksek Pozitif
25....89	<i>S. hominis</i> , <i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> Yüksek Pozitif
25....75	<i>S. hominis</i> , <i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i> Pozitif
25....30-2	<i>E. faecium</i> <i>S. haemolyticus</i>	<i>E. faecium</i> Yüksek Pozitif
25....28	<i>E. faecium</i> <i>S. haemolyticus</i>	<i>E. faecium</i> Yüksek Pozitif

4.2.3. Antibiyotik Direnç Sonuçları

Laboratuvarımızda rutinde kullanılan VITEK-2 otomatize sistemi ile elde edilen gram negatif izolatlarda direnç saptanan antimikrobiyaller ve panel ile saptanan direnç genlerinin sonuçlarına Tablo 29’da yer verilmiştir. En yaygın karbapenem direncine Enterobacterales ailesi içinde, *K. pneumoniae* (11, %78,5) ve *P. stuartii* (2,%100) izolatlarının sahip olduğu görüldü. Tüm *A. baumannii* izolatları karbapenem dirençli idi. *E. coli* izolatlarında ise karbapenem direncine rastlanmadı.

Tablo 29. Gram negatif izolatlarda antimikrobiyal direnç durumu

Mikroorganizma	n	VITEK-2					Sepsis Panel				
		KOL R*	CZA R**	MP R***	IMP R***	ETP R***	OXA- 48	NDM	VIM	KPC	IMP
<i>E. coli</i>	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K.pneumoniae</i>	14	8	1	11	7	11	9	4	-	2	1
<i>K. oxytoca</i>	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> <i>spp.</i>	3	-	-	3	3	NA	-	-	-	-	-
<i>A. baumannii</i>	12	6	NA	12	12	NA	2	3	2	-	-
<i>P.stuartii</i>	2	-	-	2 ^a	2	2	2	-	-	-	-
<i>E. ludwigii</i>	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. mirabilis</i>	2	NA	-	-	-	-	2	-	-	-	-
<i>C. coseri</i>	2	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-
<i>P.agglomerans</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Kolistin (KOL) mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır.

**Seftazidim-avibaktam (CZA) disk difüzyon yöntemi ile çalışılmıştır

***MP: Meropenem, IMP: İmipenem ve ETP: Ertapenem VITEK-2 otomatize sistemi ile çalışılmıştır.

^aİkisinde orta duyarlı

Sepsis paneli ile *OXA-48* geni pozitif bulunan *K. pneumoniae* ve *P. stuartii* izolatlarının tümü VITEK-2 otomatize sistemi ile en az bir karbapeneme dirençli bulundu. Dört izolatta *NDM* geni, bir izolatta ise *KPC* geni (yüksek pozitif) *OXA-48*'e ek olarak saptandı. Karbapenem dirençli bir *K. pneumoniae* izolatında *KPC* geni ve *IMP* geni birlikte saptandı. VITEK-2 otomatize sistemi ile en az bir karbapeneme dirençli bulunan bir izolatta ise panel ile direnç geni saptanmadı.

P. mirabilis ve *C. coeseri* izolatları VITEK-2 otomatize sistem ile karbapenem dirençli bulunmazken panel ile *OXA-48* geni yüksek pozitif bulundu. VITEK-2 otomatize sistem ile karbapenem direnci saptanmayan *E.coli* izolatlarında panel ile herhangi bir direnç geni saptanmadı.

Laboratuvarımızda rutinde kullanılan VITEK-2 otomatize sistemi ile elde edilen gram pozitif izolatlardaki antimikrobiyal direnç ve panel ile saptanan direnç genlerinin sonuçlarına Tablo 30'da yer verilmiştir. VITEK-2 otomatize sistemi ile KNS'lerin %89,5' inde, *S. aureus*'ların %33,3'ünde metisilin direnci saptanırken, *E. faecium*'ların %33'ünde vankomisin direnci saptandı. Sefoksitin dirençli KNS izolatlarının kan kültürü şişelerinden çalışılan panel testi ile tüm izolatlarda *mecA/C* geni yüksek pozitif olarak tespit edildi. Kan kültürü işleyişinde dirençli olduğu gösterilen tüm vankomisin dirençli enterokokların (VRE) panel ile *vanA* direnç genleri yüksek pozitif olarak bulundu.

Tablo 30. Gram pozitif izolatlarda antimikrobiyal direnç durumu

Mikroorganizma	n	VITEK-2					Sepsis Panel		
		VA R	TE R	FOX R	MRS	VRE	<i>mecA/C</i>	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>
KNS	19*	1 ^a	-	17	17* (%89,5)		62 ^c	3 ^d	-
<i>S. aureus</i>	3	-	-	1	1(%33,3)		1	-	-
<i>E. faecalis</i>	6	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. faecium</i>	12	4	3	-		4(%33)	7 ^b	4	-
<i>S. pneumoniae</i>	2	2					-	-	-

*75 KNS arasında 19'u klinik olarak etken olduğu düşünülmüş, antibiyogram çalışılmıştır. Direnç sayıları bu numuneler için verilmiştir.

^a KNS'lerden VITEK-2 ile vankomisin dirençi bulunan örneğin (25....61) panel sonucunda sadece *MecA/C* direnci yüksek pozitif saptandı.

^b *E. faecium*'da *MecA/C* direnci pozitif bulunan 7 örneğin 4'ünde kültürde KNS üremesi de mevcuttu.

^c 62 örneğin 24'ünde etken kabul edilmediği için ADT yapılmadı. İki örnekte VITEK duyarlı olmasına rağmen panel ile direnç geni saptandı. Disk difüzyonla doğrulama yapıldı. Sadece birinde sefoksitin direnci bulundu.

^d KNS üremesi olan *VanA* saptanan üç örneğin ikisinde (25....31, 25....30) kültürde vankomisin dirençli *E. faecium* üremesi de vardı, birinde (25....29) VITEK-2 ile duyarlı saptandı. Disk difüzyon ve E-test ile duyarlılık doğrulandı.

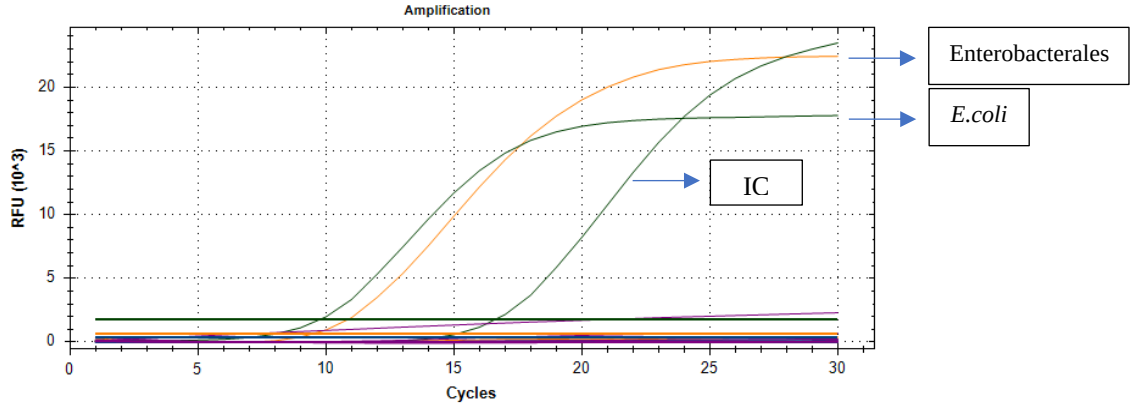
R: Resistant (Dirençli), VA:Vankomisin, TE:Teikoplanin, FOX:Sefoksitin, MRS: Metisilin Resistant Stafilokok, VRE:Vankomisin Resistant Enterokok

Kültürde üremesi olmayan veya farklı etken üremesi olan şişelerin 11'inde *mecA/C* direnç geni, üçünde *VanA* direnç geni, ikisinde *NDM* direnç geni, üçünde *VIM* direnç geni, birinde ise *OXA-48* direnç geni tespit edildi.

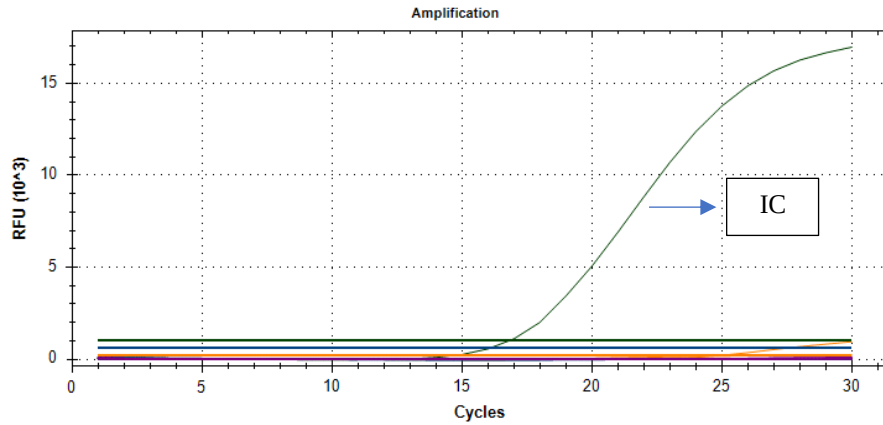
Kültür ve panelde en az bir etken düzeyinde uyumlu ancak direnç açısından farklı altı örnek vardı. Bunlar; kültürde ve panelde *Pseudomonas spp.* saptanan bir izolatta *mecA/mecC* direnç geni; kültürde ve panelde *A. baumannii* saptanan izolatta birinde *mecA/C* direnç geni; kültürde *Staphylococcus pettenkoferi* üremesi olup panelde *Staphylococcus spp.* ve *mecA/mecC* direnç geni saptanan bir izolatta *NDM* ve *VIM* direnç geni; kültürde *A. baumannii* üremesi olup panelde *A. baumannii*, *E. faecium* saptanan bir izolatta *VanA* direnç geni; kültürde ve panelde *C. parapsilosis* saptanan bir izolatta panelde *Staphylococcus spp.* ve *mecA/mecC* direnç geni; kültürde ve

panelde *Pseudomonas spp.* saptanan bir izolatta panelde *Staphylococcus spp.* ve *mecA/mecC* direnç geni tespit edildi.

Negatif ve pozitif olarak değerlendirilen sepsis panel sonuçlarına ait örnekler Şekil 2 ve 3’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Pozitif sepsis panel sonucu



Şekil 3. Negatif sepsis panel sonucu- İnternal kontrol eğrisi

4.2.4. Sonuç Verme Süreleri

Rutin laboratuvar işleyişinde kan kültürlerinde VITEK MS ile tanımlama sürelerinin ortalamaları hesaplandığında; Gram pozitif koklarda sonuç verme süresi (saat:dakika:saniye) ortalama 53:45:32, Gram negatiflerde 50:12:48, mayalarda 74:21:07, Gram pozitif difteroid basillerde 85:36:20, polimikrobiyal üreme olan şişelerde 57:42:00 olarak bulundu.

Rutin laboratuvar işleyişinde VITEK-2 ile antibiyogram sonuç verme süresi ortalamaları hesaplandığında; *K. pneumoniae* için (karbapenem direnç tespit süresi)

ortalama 63:24:26 (n=14), enterokoklar için (vankomisin direnç tespit süresi) 78:42:07 (n=17), *S.aureus* için (metisilin direnç tespit süresi) 52:34:20 (n=3), KNS'ler için (metisilin direnç tespit süresi) 73:10:37 (saat:dakika:saniye) olarak bulundu.

Sendromik sepsis paneli ile sonuç verme süresi tam kanda izolasyon süresi 16 dk, kan kültüründe izolasyon süresi 9 dk, amplifikasyon 45 dk olacak şekilde bir örnek için ortalama 1,5 saatti. Ortalama pozitif sinyal süresi dikkate alındığında gram negatifler için ortalama sinyal süresi 13 saat (ort.11,5 sa + panel); gram pozitif koklar için ortalama sinyal süresi 20,5 saat (ort. 19 sa + panel); mayalar için ortalama sinyal süresi 23 saattir (ort. 21,5 sa + panel). Kültür negatif örneklerde sonuç verme süresi beş güne kadar uzarken sepsis paneli ile 1,5 saatte sonuç verilebilmektedir.



5. TARTIŞMA

Çalışmamızda GZ PZR esaslı sendromik sepsis panelinin patojen tanımlama etkinliğini, rutin yöntemler ve MALDI-TOF MS sistemi ile karşılaştırarak, ana antibiyotik direnç genlerinin varlığı ile izolatların antibiyotik duyarlılık paternlerini belirlemek ve sendromik sepsis panel kullanımının hem tanımlama hem de antibiyotik direnç durumunun tespit süresine etkisi değerlendirildi. Bu amaçla MH-2 YBÜ' de takip ve tedavi edilen sepsis şüpheli, yoğun bakım ünitesine yatışı sırasında SOFA skorunda iki veya daha fazla artış olan 155 hastadan gönderilen 310 adet kan kültürü örneği ve eş zamanlı alınmış 155 adet tam kan örneği çalışmaya dahil edildi.

Sepsis için erkek cinsiyette olmanın %25-30 oranında daha yüksek risk oluşturduğunu gösteren yayınlar mevcuttur ve bu durum pek çok epidemiyolojik inceleme ve randomize kontrollü çalışmada da teyit edilmiştir (93-96). Çalışmamızda, erkek cinsiyet oranı %61 ile kadın cinsiyete göre yüksek tespit edildi. Sepsis, her yaş grubunu etkilemekte; ancak, özellikle yüksek risk altındaki yaşlı yetişkinlerde görülme sıklığı ve mortalite belirgin bir şekilde artış göstermektedir (97). Çalışma grubumuzdaki hastaların %56'sını 65 yaş üstü hastalar oluşturdu. Esper ve arkadaşlarının yapmış olduğu 25 yıllık bir çalışmada, sepsiste en sık karşılaşılan enfeksiyon kaynakları solunum yolu enfeksiyonları (%32) ve ürogenital enfeksiyonlar (%23) olarak saptanmıştır (93); bu bulgular, bizim çalışmamızın sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Sepsisin semptom ve bulguları spesifik değildir. Sepsis vakalarında genellikle gözlemlenen semptomlar arasında hipotansiyon, taşikardi, ateş ve lökositoz yer alır (1). Biyobelirteçler ise tanı konulmasında, tedavi yanıtının değerlendirilmesinde ve prognoz takibinde önemli rol oynarlar (28). Schupp ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada sepsis bulguları ve biyobelirteçleri araştırılmış olup sepsis parametreleri ortalama değerleri PCT dışında bizim çalışmamızla benzer bulunmuştur. PCT ortalaması Schupp ve arkadaşlarının çalışmasında 0,0028 µg/ml iken bizim çalışmamızda 16 µg/ml bulundu (98). Çalışmamızda, prokalsitonin (PCT) seviyesi > 200 µg/ml olan dört hastada sepsise eşlik eden metastatik kanser varlığı, çalışmadaki yüksek PCT ortalamasının olası bir sebebi olarak düşünüldü.

Sepsis, YBÜ’de sık karşılaşılan ve ciddi morbidite ve mortaliteye neden olan bir durumdur. Ölüm oranları ve ortalama yatış süreleri, hastalığın şiddeti, eşlik eden komorbiditeler, sepsisin neden olduğu organ hasarı, hastanenin kaynakları, uygulanan tedavi protokolleri ve coğrafi konum gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

Padkin ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, sepsisli hastaların ortalama medyan YBÜ yatış süresi yaklaşık 3,56 gün, medyan hastane yatış süresi ise 18 gün; ölüm oranları YBÜ taburculuğundan önce %35, hastanede yatış sırasında ise %47 olarak bulunmuştur (99). Türkiye’de yapılan çok merkezli (n=1499) bir çalışmada YBÜ’de takip ve tedavi edilen hastaların ortalama yatış süresi 27 gün; ölüm oranları ise %46,1 olarak bulunmuştur (100). Çalışmamızda ortalama yatış süresi 40 gün, mortalite oranı %48 olarak bulunmuş olup, ülkemizde yapılan çalışma ile paralellik göstermektedir.

Kan kültürü şişelerinde kullanılan ticari sisteme göre sinyal verme sürelerinde değişiklikler olmakla birlikte yapılan çalışmalarda ortalama süreler Gram pozitif bakteriler için 17,2 saat, Gram negatif basiller için 10,8 saat ve mayalar için türüne göre 16-28 saat olarak bildirilmiştir (101, 102). Çalışmamız literatürdeki bu bulgularla paralellik göstermektedir.

Farklı çalışmalarda kan kültürlerinden en sık izole edilen bakteriler değişiklik göstermektedir. Ülkemizde gerçekleştirilen bir araştırmada, sepsis etkeni olduğu düşünülen 208 kan kültürü örneğinde *E. coli*’nin en sık izole edilen Gram negatif bakteri, *S. epidermidis*’in ise en sık izole edilen Gram pozitif bakteri olduğu belirlenmiştir (103). Bir diğer çalışmada alınan kan kültürlerinin (n=2903) %12,8’i gerçek pozitif üreme, % 2,3’ü kontaminasyon olarak değerlendirilmiştir. Gram pozitif bakterilerin % 63,1’i KNS’ler, % 17,9’u *S.aureus*, % 11,5’i *E. faecalis*, % 4,3’ü *Streptococcus* spp. ve % 3,2’si *E. faecium* olarak tanımlanmıştır. Gram negatif bakterilerin % 40,1’i *E.coli*, % 21,8’i *Klebsiella* spp., %14,1’i *A.baumannii*, % 9,9’u diğer Enterobacterales türleri, % 8,5’i *P.aeruginosa*, % 5,6’sı ise diğer nonfermenter türler olarak saptanmıştır. Kan kültürlerinden izole edilen etkenler içinde KNS’ler ilk sırada yer almıştır. Farklı çalışmalarda da bizim çalışmamızla benzer şekilde kan kültürü örneklerinden en sık izole edilen etkenin KNS’ler olduğu gösterilmiştir (104, 105). Bizim çalışmamızda sıklık sırasıyla en sık Gram pozitif koklardan KNS

(n=75/176), *E. faecium* (n=12/176), *E. faecalis* (n=6/176), Gram negatif basillerden *K. pneumoniae* (n=14/176), *A. baumannii* (n=12/176), *E. coli* (n=11/176) saptandı. Çalışmalar arasındaki mikroorganizma dağılım farklılıkları, hasta popülasyonunun özellikleri, antibiyotik kullanımı ve direnç oranları, enfeksiyon kontrol uygulamaları, coğrafi faktörler, kültür ve mikroorganizma tanımlama yöntemlerinin farklılıkları, çalışmanın yapıldığı dönemdeki mikrobiyolojik trendlerin zaman içindeki değişimi gibi birçok faktöre bağlı olabilir.

Kan kültürlerinde yetersiz cilt antisepsisi nedeniyle kontaminasyon sık görülmektedir. Kan kültüründe izin verilen kontaminasyon oranı %2-3 olmakla birlikte literatürde bu oran % 4,9-17,8 arasında bildirilmiştir (104, 106-109). Bizim çalışmamızda kontaminasyon oranı %13,8 olarak bulunmuştur. Kontaminasyon oranlarının yüksek olması, sağlık personellerinin kan alma işlemi sırasında aseptik koşulların sağlanmasına yeterli dikkati göstermemeleri ve bu konudaki eğitimlerin yetersiz oluşu ile ilgili olabilir. Kontaminasyon oranlarını azaltmak için sağlık çalışanlarının aseptik teknikler konusunda düzenli eğitim alması, el hijyenine dikkat etmesi ve örnek alma sırasında tüm prosedürlere titizlikle uyması gerekmektedir. Örnek toplama ve işleme süreçlerinin devamlı bir şekilde değerlendirilmesi ve geliştirilmesi de kritik öneme sahiptir. Ayrıca YBÜ'lerinde takip edilen hastalarda uzun süreli santral venöz kateter veya diğer uzun süreli intravenöz cihazların kullanımı, mikroorganizmaların üremesine ve kan dolaşımına girmesine sebep olabilir. Bu durum, gerçekte enfeksiyon olmamasına rağmen, kontamine örneklerin toplanmasına neden olabilir (110). Kan kültürlerinde kontaminasyon olarak en sık saptanan etkenler genellikle cilt florasından kaynaklanan bakterilerdir. Bu mikroorganizmalar arasında KNS'ler, özellikle *S. epidermidis* dikkat çekerken bunu *S. hominis*, *S. haemolyticus* ve *S. capitis* izlemektedir. Ayrıca, *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium acnes* (yeni adıyla *Cutibacterium acnes*) ve bazen *Bacillus* spp. gibi diğer cilt florası üyeleri de kontaminant olarak rapor edilmektedir (88, 111-113). Çalışmamızda en sık kontaminant olarak izole edilen mikroorganizmalar (n=43/310) sırasıyla; *S. hominis* (n=15), *S. epidermidis* (n=9), *S. haemolyticus* (n=9), *Corynebacterium* spp. (n=6) olarak bulundu.

Yapılan literatür incelemesi neticesinde, ülkemizde tam kan örneğinden Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Panel kitinin kullanıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

Carrara ve ark. tarafından Magicplex (Seegene, Kore) ile doğrudan tam kan örneklerinden yaptıkları çalışmada testin duyarlılığı %65, özgüllüğü %92; Loonen ve ark. çalışmasında ise, aynı testin duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla %33 ve %77 olarak daha düşük bulunmuştur (114-116). Sepsitest (Molzym, Almanya), VYOO (SIRS-Lab, Almanya) ve LightCycler SeptiFast (Roche, Almanya) kitlerinin karşılaştırıldığı çalışmada, duyarlılık oranları sırayla %46,15 (6/13), %38,46 (5/13), %46,15 (6/13) özgüllük oranları sırasıyla %100 (37/37), %100 (37/37), %92,11 (35/38) bulunmuştur (117).

Tam kandan doğrudan multipleks PZR ile çalışan sepsis panel kitleri arasında en yaygın kullanılan ve en sık akademik çalışmaların yapıldığı SeptiFast (Roche, Almanya) ile ilgili yayınlar incelendiğinde; Dark ve arkadaşları tarafından yapılan meta analizde 41 çalışma incelenmiş, tam kandan yapılan SeptiFast testinin duyarlılığı %68, özgüllüğü %86 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, SeptiFast testinin, sepsis şüphesi olan hastalardaki patojenleri tanımlama konusunda yüksek bir özgüllüğe sahip olduğunu ancak duyarlılık açısından düşük performans sergilediğini göstermektedir (118).

Groep ve ark. SeptiFast ile yaptıkları çalışmada, etken düzeyindeki duyarlılık oranları %65-100, Gram pozitif ve Gram negatif etkenler için ise sırasıyla %26 ve %32 olarak, mayalar için %0-7 arasında tespit edilmiştir. Kültür negatif numunelerde etken tespitindeki özgüllük oranları ise %89-100 arasında bulunmuştur. Toplamda 2200 tür spesifik PZR testi içinde, kültür negatif örneklerde %4 oranında yanlış pozitif sonuçlar gözlemlenmiştir (119).

Bir başka meta analiz çalışmasında ise SeptiFast testinin bakteriyemi veya fungemiye tespit etmedeki toplam (patojen spesifik) duyarlılık oranı %75, özgüllük oranı ise %92 olarak bulunmuştur. Bakteriyeminin saptanmasında %80 duyarlılık ve %95 özgüllük; fungemide ise %61 duyarlılık ve %99 özgüllük göstermiştir (120). Ayrıca literatürde PZR/ESI-MS yöntemi ile çalışan PLEX-ID BAC testinin (Abott, ABD) %81-90,5 arasında duyarlılık, %64-94 arasında özgüllük gösterdiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (116, 121).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Sepsis Patojenleri Primer Probe Reaktifleri (Anatolia, Türkiye) kiti kullanılmış; testin tam kandaki duyarlılığı %11,67 ve özgüllüğü %96,67 ; kan kültürü şişesindeki duyarlılığı %89,58, özgüllüğü %57,14 olarak; etken bazında değerlendirildiğinde ise duyarlılık oranları % 66,7 -100 ve özgüllük oranları % 80,9 – 100 arasında bulunmuştur (122).

Çalışmamıza dahil ettiğimiz 155 kan örneği, kan kültür sonuçları ile karşılaştırıldığında duyarlılık oranı %21,43, özgüllük oranı %80, doğruluk oranı %53,5 olarak bulundu. Çalışmamıza dahil ettiğimiz hastaların %96'sının antibiyotik tedavisi altında olması patojen yükünü moleküler testlerin tespit edebileceği seviyenin altına düşürebilir, bu durum testin duyarlılığının düşük bulunmasının sebebi olabilir. Sonuçlar, tam kandan yapılan sepsis panel testlerinin kritik hasta popülasyonlarında hızlı ve etkili patojen tespitinin potansiyeline dikkat çekmekte; ancak, metodun duyarlılığının artırılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Doğrudan mikrobiyal türlerin belirlenmesi amacıyla tasarlanan moleküler tanı testleri, aynı zamanda *mecA*, *vanA-vanB* ve geniş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL) ile karbapenemazı kodlayan genler gibi çeşitli direnç genlerini de doğrudan tespit edebilmekte ve hızlı sonuç alınmasını sağlamaktadır (123). Çalışmamızda doğrudan tam kandan çalışılan panel ile yedi örnekte direnç geni saptandı. Yüzde 57'si antibiyogram sonuçları ile uyumlu iken kalan örnekler de testler arasında uyumsuzluk olduğu için değerlendirme yapılamadı.

Konvansiyonel kan kültürü yöntemleri, sepsise neden olan etkenlerin tanımlanması ve bu etkenlerin antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi için çok aşamalı ve zaman alıcı prosedürler gerektirir. MALDI-TOF MS teknolojisinin gelişimi ile direkt pozitif kan kültürlerinden patojenlerin hızlı bir şekilde tanımlanması bu süreçleri hızlandırmıştır. MALDI-TOF MS ile pozitif sinyal veren kan kültürü şişesinden yapılan çalışmada örneklerin %93,2 (289/310)'i tür seviyesinde doğru tanımlanmıştır. Bu çalışmada Gram negatif izolatlar tür seviyesinde %100 doğru tanımlanırken, Gram pozitif izolatlar için %88,9 doğru tanımlama oranı ile biraz daha düşük bir performans elde edilmiştir. Ayrıca sonuç verme süresi de anlamlı derecede kısalmıştır. (124). Ancak, bu teknoloji ile patojenlerin antibiyotik direnç durumunun belirlenmesi mümkün değildir. Patojenlerin antibiyotik direnç profillerinin

belirlenmesi için, MALDI-TOF MS ile tanımlama sonrası ek olarak fenotipik antibiyotik duyarlılık testleri uygulanması gerekmektedir. Bu ek testler, genellikle sonuçların alınması için ek 24 saatlik bir süre gerektirmektedir. Bu nedenle, mikrobiyolojik tanı ve antibiyotik yönetimi alanında, hem hızlı tanımlama hem de direnç tespiti sağlayabilecek yeni teknolojik çözümler (sendromik paneller) geliştirilmiştir.

Harris ve ark. FISH yöntemine dayanan PNA-FISH (AdvanDx, ABD) ile yaptıkları çalışmada %98,8 doğruluk oranı elde etmiş, kültür ile tanımlama 83,6 saat sürerken bu yöntemle 11,2 saatte sonuç almışlardır (125).

Dunbar ve ark. tarafından gerçekleştirilen ve toplam 1642 kan kültür örneği üzerinde yapılan çalışmada, DNA mikroarray tabanlı hibridizasyon metodolojisine dayanan Verigene (Nanosphere, ABD) sistemi kullanılarak Gram pozitif kan kültürü testinin performans değerlendirmesi sonuçlarına göre belirlenen tüm hedeflere yönelik testin duyarlılık oranı $\geq$ %93,1, özgüllük oranı $\geq$ %98,2; Gram negatif kan kültürlerinde duyarlılık oranı $\geq$ %92,2 özgüllük oranı $\geq$ %99,4 olarak belirlemiştir. Bununla birlikte, *vanA* geninin *E. faecalis* ve *E. faecium* ile ilişkilendirilmesi durumunda sırasıyla %85,7 ve %93,0, *mecA*'nın *S. epidermidis* ile ilişkilendirilmesi durumunda %81,5 özgüllük oranları gözlemlenmiştir. Bu bulgular, Verigene sisteminin genel olarak yüksek duyarlılık ve özgüllük oranlarına sahip olduğunu gösterirken, belirli hedef-gen ilişkilerinde bu oranların değişkenlik gösterebileceğine işaret etmektedir (126). Ledeböer ve ark. aynı sistem ile Gram negatif kan kültürlerinde duyarlılık oranını %92,9-100, özgüllük oranını %99,5-99,9 olarak belirlemiştir. Yöntemin çalışma sürelerinin 2,5 saat olduğu bildirilmiştir (127).

Kaletta ve ark. yaptığı çalışmada PLEX-ID BAC (Abbott Molecular, ABD) kiti kan kültürlerinden çalışılmış ve sepsis tanısında %95 duyarlılık, %98 özgüllük göstermiştir. Sonuç verme süresinin ise 4-6 saat olduğu bildirilmiştir (128).

Tissari ve ark.'nın multipleks PZR ve DNA mikroarray yöntemi ile çalışan Prove-it™ Sepsis (Mobidiag, Finlandiya) kiti ile yaptıkları çalışmada ise testin duyarlılığı %94,7 ve özgüllüğü %98,8, MRSA uyumu ise %100 bulunmuştur. Testin, geleneksel kültür bazlı yöntemle kıyasla ortalama 18 saat daha hızlı sonuç verme süresine sahip olduğu bildirilmiştir (129).

Huang ve ark. GenMark Dx ePlex (Roche, İsviçre) kiti ile yaptıkları çalışmada hedeflenen kültür izolatlarının tespiti için duyarlılık ve PPD, Gram pozitif panel için %97 ve %99, Gram negatif panel için ise %99 ve %96 olarak belirlenmiştir, bu da sırasıyla Gram pozitif ve Gram negatif panel için %96 ve %94'lük genel uyum oranları sağlamıştır. Hedeflenen direnç genlerinin tamamı panel tarafından doğru bir şekilde tespit edilirken, bu da kan kültürlerindeki patojenlerin hızlı tanımlanmasında mükemmel tanı doğruluğunu göstermiştir. Yöntemin çalışma süresinin pozitif kan kültürü sonrası 1,5 saat olduğu bildirilmiştir (130).

So ve ark. tarafından yapılan çalışmada BioFire Blood Culture Identification paneli (BCID; bioMérieux, France) %93 oranında (2016/2167) tam uyum göstermiş; hem organizmalar hem de antimikrobiyal direnç genleri eşleşmiş ve hedef dışı organizmalar tespit edilmemiştir. Tür düzeyindeki uyumsuzluk %0,6 bulunmuştur. Çalışmada sadece BCID tarafından tespit edilen 65 izolat (%3) ve hedef panelde yer aldığı halde BCID tarafından tespit edilmeyen 22 izolat (%1) varmış. Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler için tam uyum oranları sırasıyla %93,7 ve %92,5 iken, mayalar için daha düşük bir uyum oranı (%85,7) rapor edilmiştir. BCID paneli ve konvansiyonel antibiyotik duyarlılık test (ADT) sonuçları arasında *vanA/B* için %97,2, *mecA* için %95,1 ve *blaKPC* için %99,1 uyum saptanırken, konvansiyonel yöntemlere kıyasla anlamlı derecede daha kısa sürede tanımlama yapılabilmektedir (131).

Sparks ve ark. tarafından BioFire Blood Culture Identification panel 2 (BCID; bioMérieux, France) kiti kullanılarak yapılan çalışmada kit, monomikrobiyal üremelerde kan kültüründeki mikroorganizmaları %92,9 oranında doğru tanımlamıştır. Kan kültürü alınma işleminden organizma tanımlanmasına kadar geçen ortalama süre BCID2 paneli ile 24,6 saat, geleneksel yöntemlerle ise 38,2 saat olarak belirlenmiştir (132).

Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Panel kiti ile çalıştığımız 310 kan kültür şişesinde 177 etken saptandı. Buna göre panel ile %90,3 doğruluk oranı elde edildi. Kan kültür şişelerinin 167 (%54)'sinde üreme saptanırken; panel ile 145 (%48) örnekte pozitif sonuç saptandı. Aradaki farkın büyük bir kısmını klinik olarak önemi olmayan, kontaminant olarak değerlendirilen KNS'lerin panelde negatif sonuçlanması oluşturdu. Kan kültürü şişelerinden çalışılan panel ile %88,02 duyarlılık ve %93 özgüllük elde edildi. Kültürde üreme olmayıp panel ile pozitiflik saptanan 10 örneğin

tekrarlanan ekimlerinde de üreme saptanmadı. Etken bazında değerlendirildiğinde; Gram pozitif etkenlerde duyarlılık %83-100 arasında, özgüllük %96-100 arasında; Gram negatif etkenlerde duyarlılık %96-100, özgüllük %96-100 arasında; mayalarda duyarlılık %0-100, özgüllük %98-100 arasında bulundu.

Çeşitli araştırmalar, Enterobacterales'in GSBL üreten suşlarına bağlı bakteriyemi vakalarında hastaların yüksek mortalite oranlarına sahip olduğunu göstermiştir (133). Karbapenemler gibi en güçlü antimikrobiyal ajanları hidrolize edebilme kapasitesine sahip en önemli karbapenemaz enzimleri arasında KPC, NDM, VIM, IMP ve OXA enzimleri yer almaktadır. Özellikle YBÜ'deki hastalar için büyük risk oluşturan çoklu ilaca dirençli (MDR-ÇİD) Gram negatif bakteriler tarafından kaynaklanan kan dolaşımı enfeksiyonları, septik şok gibi yaşamı tehdit eden durumlara yol açabilen ciddi enfeksiyonlardır (134). Ülkemizde karbapenem direncine neden olan *blaKPC*, *blaNDM* gen bölgelerine sporadik, *blaOXA-48* gen bölgelerine ise endemik olarak rastlanmaktadır (135). Çalışmamızda da panel ile en sık saptanan direnç geni *OXA-48* oldu. En az bir karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* ve *P. stuartii* izolatlarının ise tümünde panel ile *OXA-48* karbapenem direnci pozitif bulundu. Karbapenem dirençli bir *K. pneumoniae* izolatında *KPC* geni ve *IMP* geni birlikteliği saptanırken, karbapenem dirençli bir *K. pneumoniae* izolatında ise panel ile direnç geni saptanmadı.

Antibiyotik direnci sadece antibiyotik tedavisinin sınırlı etkinliği anlamına gelmemekte, aynı zamanda hastanede kalış süresinin uzamasına ve yüksek morbidite ve mortalite oranlarına da yol açmaktadır (136). Avrupa Antimikrobiyal Direnç Gözetim Ağı olarak da bilinen EARS-Net 2022 raporuna göre *S.aureus* ile enfekte klinik izolatlarda metisilin direnci %1,1-50, *E.faecium* ile enfekte klinik izolatlarda vankomisin direnci %0-67,7 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir. Bu oranlar göz önüne alındığında günümüzde direnç varlığının tespiti önem kazanmaktadır (137).

Çalışmamızda tüm VRE ve MRSA'lar, *van A* ve *mec A/C* genleri analiz edilerek başarılı bir şekilde, rutin kültür yönteminden çok daha kısa sürede tanımlanmış olup uyum %100 bulundu. KNS'lerde VITEK-2 ile metisilin direnci saptanan örneklerde panel ile *mecA/C* geni yüksek pozitif olarak saptandı. Tek bir kan kültürü setinde üreyen KNS'deki *mecA* direnç genini raporlamak, her zaman klinik olarak avantaj oluşturmaz. Bu nedenle, direnç genlerinin raporlanmasına, takip

edilen hastaların özelliklerine göre karar verilmelidir. Kültürde üremesi olmayan veya farklı etken üremesi olan şişelerin 11'inde *mecA/C* direnç geni, üçünde *VanA* direnç geni, ikisinde *NDM* direnç geni, üçünde *VIM* direnç geni, birinde ise *OXA-48* direnç geni tespit edildi. Çeşitli çalışmalarda da (138, 139) gösterilmiştir ki, bir mikroorganizmanın genomunda antimikrobiyal direnç geninin bulunması, bu genin her zaman aktif olarak ifade edilip dirençli bir fenotip oluşturacağı anlamına gelmemekte, genin ifadesi ve ürünü, belirli koşullara bağlı olarak değişebilmektedir. Antimikrobiyal direnç genleri arasında genetik çeşitlilik bulunabilir. Panelde tespit edilen gen, direnç fenotipine yol açan spesifik bir gen varyantı olmayabilir. Genin direnç oluşturma kapasitesini etkileyen, bu genin fonksiyonunu bozan mutasyonlar olabilir. Epigenetik değişiklikler de genlerin ifadesini etkileyebilir ve mikroorganizmanın bir antibiyotiğe karşı direnç gösterip göstermeme durumunu değiştirebilir. Moleküler tanı yöntemlerinde, çeşitli teknik nedenlerden dolayı yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar alınabilir. Bu da tespit edilen genin gerçekte mikroorganizma tarafından ifade edilip edilmediği konusunda yanılgılara yol açabilir. Bu nedenlerden dolayı, bir mikroorganizmanın belirli bir antibiyotiğe karşı dirençli olup olmadığını anlamak için genin tespiti tek başına anlamlı olmayabilmekte, daha kapsamlı bir değerlendirmenin yapılmasına ihtiyaç duyulabilmektedir (140).

Çalışmamızda kan kültür şişelerinden çalışılan panel testleri ile kan kültürü arasında %4,8 oranında uyumsuz sonuç elde edilmiş olması; hastaların %96 gibi yüksek oranda antimikrobiyal tedavi alıyor olmasına bağlandı. Bu bulgu, antimikrobiyal tedavinin, kan kültürü sonuçlarını olumsuz etkileyebileceği yönündeki düşünceleri destekler niteliktedir. Negatif sinyal veren ve kültür plağında üreme olmayan 143 kan kültür şişesinin 10 tanesinde panel ile etken tespit edildi. Bunların dördünde Enterobacteriaceae, üçünde *C.krusei*, birinde Enterobacteriaceae + *Streptococcus* spp. birinde *Streptococcus* spp. birinde ise *E.coli* + Enterobacteriaceae saptandı. Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, kan kültüründe üreme olmayan ancak hastanın sepsis belirtilerinin devam ettiği durumlarda, kan kültür şişesi üzerinden gerçekleştirilen panel testinin önemli ve yararlı olabileceği değerlendirilmiştir. Tam kandan elde edilen örneklerde, kan içerisindeki bakteriyel yükün az olması sebebiyle etken mikroorganizmanın belirlenememesi; buna karşın, kan kültürü şişelerinde inkübasyon işlemi neticesinde bakteriyel yoğunluğun

artmasıyla, kan kültürü şişelerinden çalışılan testlerde, kitin patojeni etkin bir şekilde tespit edebildiği gözlenmiştir.

Çalışmalardaki farklılıklar, hasta popülasyonunun ve örnek sayısının farklı olması, çalışmanın retrospektif veya prospektif nitelikte olması, farklı antimikrobiyal tedavilerin kullanımı, antimikrobiyal tedavi kullanım oranlarının ve kullanılan kan kültür sistemlerinin farklılığına bağlı olabilir. Hastaların kullanmış oldukları antibiyotik tedavileri veya örnekte bulunan ve baskın olan diğer etkenlerin üremeyi baskılayabilmeleri sebebiyle kültürde üremeyen etkenler sendromik paneller ile saptanabilir (141, 142).

Moleküler tanı yöntemleri, cansız mikroorganizmaların genetik materyallerini de saptama kapasitesine sahiptir. Antibiyotik tedavisi altındaki yoğun bakım hastalarında özellikle polimikrobiyal bakteriyemi varlığında, bir mikroorganizma kan kültürü ortamında proliferasyon gösterirken, diğeri antibiyotik etkisiyle canlılığını yitirmiş ve yalnızca PZR yöntemi ile saptanabilir hale gelebilir. BacT/ALERT® FA Plus ve BacT/ALERT® FN Plus kan kültürü şişelerinin ürün bilgilerinde, şişe içeriğinin steril olmasına karşın, Gram boyama ile boyanabilen, canlılık göstermeyen mikroorganizmalar içerebileceği belirtilmiştir; bu durumlar, moleküler yöntemlerle yapılan analizlerde yanlış pozitif sonuçların elde edilmesine neden olabilir (143, 144). İstatistiksel olarak anlamlı olmayan bir farkın, pratikte önemsiz olduğu anlamına gelmeyebileceği de unutulmamalıdır. PZR ile belirli patojenler çok daha hızlı tespit edebilirken, kan kültürü yöntemi daha geniş bir patojen yelpazesini tespit edebilir. Bu durumda, seçim, spesifik klinik gereksinimlere göre yapılmalıdır.

Sepsis düşünüldüğü andan itibaren antibiyotik tedavisindeki her bir saatlik gecikmenin mortaliteyi %9 oranında artırdığı gösterilmiştir (3). Çalışmamızda sonuç verme süreleri ortalama 50-85 saat arasında değişmekteydi. Direnç tespit süreleri ise ortalama 52-78 saat olarak bulundu. Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S Panel kiti ile bu süreler 1,5 saate kadar düşürülebilmektedir. Yeni geliştirilen PZR tabanlı sistemler geleneksel kültür yöntemlerine kıyasla bu süreleri oldukça kısaltmaktadır.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda, standart kan kültür yönteminden daha hızlı sonuç veren sendromik sepsis paneli ile çalışılan tam kan örneklerinde %53, kan kültür şişelerinde %90 oranında kültürle uyumlu sonuçlar elde edildi. Bio-Speedy Sepsis qPCR MX-30S paneli tanımlamanın yanı sıra birçok direnç geni saptama kapasitesine de sahiptir. Sepsis paneli ile çalışılan tam kan örneklerinden yedisinde direnç geni saptandı. Bunlardan dört tanesi (%57) antibiyotik duyarlılık sonuçları ile uyumluydu. Üç örnekte ise kültür ile uyumsuzluk olduğu için antibiyogram sonuçları açısından değerlendirme yapılamadı. Sepsis paneli ile çalışılan kan kültürü örneklerinde ise VRE'lerin (n=4), MRSA'ların (n=1) ve MRKNS'lerin (n=17) tümünde direnç nedeni olan gen gösterildi. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının sadece birinde direnç geni saptanamadı. KNS'lerden VITEK 2 ile vankomisin direnci saptanan bir örnekte vankomisin direnç geni saptanmadı. Direnç sebebi olan gen bölgesinin kitin hedeflediği direnç gen bölgelerinin dışında yer alması bu durumun sebebi olabilir. *Van A* direnç geni saptanan üç KNS örneğinin ikisine eşlik eden *E.faecium* vardı, diğeri ise vankomisin duyarlı bulundu (disk difüzyon ve E-test ile de doğrulandı). Panelde tespit edilen bu genin, direnç fenotipine yol açan spesifik bir gen varyantı olmayabileceği düşünüldü. Rutin işlemlerde patojenlerin tanımlama sürelerinin ortalaması 50-74 saat arasında bulunurken, antibiyogram sonuç verme süre ortalamaları 52-78 saat arasında bulundu. Sepsis paneli ile bu sürelerin 13-23 saate kadar kısaltılabildiği görüldü.

Moleküler tanı yöntemleri, sonuçların elde edilme zamanını özellikle analiz doğrudan tam kandan yapıldığında ve kan kültürü gereksinimi olmaksızın gerçekleştirilebildiğinde önemli ölçüde kısaltabilir. Bununla birlikte, kan içerisindeki patojen yoğunluğunun düşük olması bu süreci teknik açıdan zorlu hale getirmekte ve bu durum genellikle düşük duyarlılık ile düşük negatif prediktif değere sebep olmaktadır. Bu, tam kandan yapılan nükleik asit amplifikasyon testlerinin sepsisi kesin olarak dışlamasının mümkün olmayabileceği anlamı taşır. Pozitif kan kültüründen yapılan testler, özgül patojen tespitinde daha yüksek bir duyarlılık sağlar, bu da sonuçların elde edilme süresini, geleneksel kültür ve patojen tanımlama yöntemlerine kıyasla önemli ölçüde kısaltır.

Çalışmamız geniş yaş skalasında, yeterli sayıda hasta ile gerçekleştirildiği düşünülmektedir. Kısıtlılık olarak örnek alımı sırasında hastaların büyük bir oranının antibiyotik tedavisi altında olmasının özellikle tam kan örnekleri ile çalışılan test sonuçlarını etkilemiş olabileceği söylenebilir. Bir başka kısıtlılık olarak sadece yetişkin hasta grubu üzerinde gerçekleştirilmiş olması gösterilebilir. Pediatrik hasta grubunda daha az hacimde örnek ile çalışıldığından, bu grubu da kapsayacak şekilde bir araştırmanın yapılması değerli bulgular sunacaktır. Ayrıca kültürde üremesine rağmen panel ile saptanamayan patojenlerin varlığı testin duyarlılığını etkilemiştir.

Tüm bu faktörler göz önünde bulundurulduğunda, patojenleri ve direnç genlerini hızlı ve hassas bir şekilde tespit edebilen sendromik panellerin, özellikle kan kültür örneklerinde kullanımının, kritik hasta grubunda hasta sağ kalımı açısından faydalı bir yöntem olabileceği öngörüldü.

7. KAYNAKLAR

1. Guarino M, Perna B, Cesaro AE, Maritati M, Spampinato MD, Contini C, De Giorgio R. 2023 Update on Sepsis and Septic Shock in Adult Patients: Management in the Emergency Department. *J Clin Med*. 2023;12(9).
2. WHO W. Global report on the epidemiology and burden of sepsis: current evidence, identifying gaps and future directions. World Health Organization Geneva; 2020.
3. Liu VX, Fielding-Singh V, Greene JD, Baker JM, Iwashyna TJ, Bhattacharya J, Escobar GJ. The Timing of Early Antibiotics and Hospital Mortality in Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;196(7):856-63.
4. Gonzalez MD, Chao T, Pettengill MA. Modern Blood Culture: Management Decisions and Method Options. *Clin Lab Med*. 2020;40(4):379-92.
5. Lambregts MMC, Bernards AT, van der Beek MT, Visser LG, de Boer MG. Time to positivity of blood cultures supports early re-evaluation of empiric broad-spectrum antimicrobial therapy. *PLoS One*. 2019;14(1):e0208819.
6. Tseng AS, Kasule SN, Rice F, Mi L, Chan L, Seville MT, Grys TE. Is It Actionable? An Evaluation of the Rapid PCR-Based Blood Culture Identification Panel on the Management of Gram-Positive and Gram-Negative Blood Stream Infections. *Open Forum Infect Dis*. 2018;5(12):ofy308.
7. Britt NS, Khader K, He T, Willson TM, Effiong A, Timbrook TT, et al. Examining the clinical impact of rapid multiplex polymerase chain reaction-based diagnostic testing for bloodstream infections in a national cohort of the Veterans Health Administration. *Pharmacotherapy*. 2023;43(1):24-34.
8. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin*. 2009;25(1):83-101, viii.
9. Türkmen ÜA. Sepsis-Değişiklikler Sepsis-Current Changes. *Aydın Sağlık Dergisi*. 2017;3(2):9-17.
10. Budelmann G. Hugo Schottmüller, 1867-1936. The problem of sepsis. *Der Internist*. 1969;10 3:92-101.

11. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992;20(6):864-74.
12. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, Seymour CW, Liu VX, Deutschman CS, et al. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):775-87.
13. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* 2003;31(4):1250-6.
14. Oczkowski S, Alshamsi F, Belley-Cote E, Centofanti JE, Hylander Møller M, Nunnally ME, Alhazzani W. Surviving Sepsis Campaign Guidelines 2021: highlights for the practicing clinician. *Pol Arch Intern Med.* 2022;132(7-8).
15. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Medicine.* 2021;47(11):1181-247.
16. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801-10.
17. Srzić I, Neseck Adam V, Tunjić Pejak D. Sepsis Definition: What's New In The Treatment Guidelines *Acta Clin Croat.* 2022;61(Suppl 1):67-72.
18. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1996;22(7):707-10.
19. Moreno R, Rhodes A, Piquilloud L, Hernandez G, Takala J, Gershengorn HB, et al. The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score: has the time come for an update? *Crit Care.* 2023;27(1):15.
20. Siddiqui S, Chua M, Kumaresh V, Choo R. A comparison of pre ICU admission SIRS, EWS and q SOFA scores for predicting mortality and length of stay in ICU. *J Crit Care.* 2017;41:191-3.

21. Morgan R, Williams F, Wright M. An early warning scoring system for detecting developing critical illness. *Clin Intensive Care*. 1997;8(2):100.
22. Subbe CP, Kruger M, Rutherford P, Gemmel L. Validation of a modified Early Warning Score in medical admissions. *Qjm*. 2001;94(10):521-6.
23. Usman OA, Usman AA, Ward MA. Comparison of SIRS, qSOFA, and NEWS for the early identification of sepsis in the Emergency Department. *The American Journal of Emergency Medicine*. 2019;37(8):1490-7.
24. Knaus WA, Zimmerman JE, Wagner DP, Draper EA, Lawrence DE. APACHE-acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system. *Crit Care Med*. 1981;9(8):591-7.
25. Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos PG, et al. The APACHE III prognostic system. Risk prediction of hospital mortality for critically ill hospitalized adults. *Chest*. 1991;100(6):1619-36.
26. Zimmerman JE, Kramer AA, McNair DS, Malila FM. Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) IV: Hospital mortality assessment for today's critically ill patients*. *Critical Care Medicine*. 2006;34(5):1297-310.
27. Özdemir L. Yoğun bakım ünitelerinde skorelama sistemlerinin kullanımı. *Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi*. 2014;1(2):91-100.
28. Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis. *Biomed Res Int*. 2014;2014:547818.
29. Assicot M, Bohuon C, Gendrel D, Raymond J, Carsin H, Guilbaud J. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *The Lancet*. 1993;341(8844):515-8.
30. Lee H. Procalcitonin as a biomarker of infectious diseases. *Korean J Intern Med*. 2013;28(3):285-91.
31. Gilbert DN. Use of plasma procalcitonin levels as an adjunct to clinical microbiology. *J Clin Microbiol*. 2010;48(7):2325-9.
32. Guo SY, Zhou Y, Hu QF, Yao J, Wang H. Procalcitonin is a marker of gram-negative bacteremia in patients with sepsis. *Am J Med Sci*. 2015;349(6):499-504.
33. Malik M, Sreekantan Nair A, Illango J, Siddiqui N, Gor R, Fernando RW, Hamid P. The Advancement in Detecting Sepsis and Its Outcome: Usefulness of

Procalcitonin in Diagnosing Sepsis and Predicting Fatal Outcomes in Patients Admitted to Intensive Care Unit. *Cureus*. 2021;13(4):e14439.

34. Tillett WS, Francis T. Serological Reactions In Pneumonia With A Non-Protein Somatic Fraction Of Pneumococcus. *J Exp Med*. 1930;52(4):561-71.

35. Lelubre C, Anselin S, Zouaoui Boudjeltia K, Biston P, Piagnerelli M. Interpretation of C-reactive protein concentrations in critically ill patients. *Biomed Res Int*. 2013;2013:124021.

36. Mierzchała-Pasierb M, Lipińska-Gediga M. Sepsis diagnosis and monitoring – procalcitonin as standard, but what next? *Anaesthesiology Intensive Therapy*. 2019;51(4):299-305.

37. Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol*. 1990;8:253-78.

38. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Philadelphia; 1994.

39. Yu B, Chen M, Zhang Y, Cao Y, Yang J, Wei B, Wang J. Diagnostic and Prognostic Value of Interleukin-6 in Emergency Department Sepsis Patients. *Infect Drug Resist*. 2022;15:5557-66.

40. Hu P, Chen Y, Pang J, Chen X. Association between IL-6 polymorphisms and sepsis. *Innate Immun*. 2019;25(8):465-72.

41. Hack CE, De Groot ER, Felt-Bersma RJ, Nuijens JH, Strack Van Schijndel RJ, Eerenberg-Belmer AJ, et al. Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood*. 1989;74(5):1704-10.

42. Grzybowski A, Sak J. Edmund Biernacki (1866-1911): Discoverer of the erythrocyte sedimentation rate. On the 100th anniversary of his death. *Clinics in Dermatology*. 2011;29(6):697-703.

43. Saadeh C. The erythrocyte sedimentation rate: old and new clinical applications. *South Med J*. 1998;91(3):220-5.

44. James JH, Luchette FA, McCarter FD, Fischer JE. Lactate is an unreliable indicator of tissue hypoxia in injury or sepsis. *Lancet*. 1999;354(9177):505-8.

45. Huerta LE, Rice TW. Pathologic Difference between Sepsis and Bloodstream Infections. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*. 2019;3(4):654-63.

46. Günaştı N, Balcı Ş, Tamer L. Pentraksinler. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2017;10(1):65-71.

47. Mantovani A, Garlanda C, Doni A, Bottazzi B. Pentraxins in innate immunity: from C-reactive protein to the long pentraxin PTX3. *J Clin Immunol.* 2008;28(1):1-13.
48. Song J, Park DW, Moon S, Cho HJ, Park JH, Seok H, Choi WS. Diagnostic and prognostic value of interleukin-6, pentraxin 3, and procalcitonin levels among sepsis and septic shock patients: a prospective controlled study according to the Sepsis-3 definitions. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):968.
49. Song J, Moon S, Park DW, Cho HJ, Kim JY, Park J, Cha JH. Biomarker combination and SOFA score for the prediction of mortality in sepsis and septic shock: A prospective observational study according to the Sepsis-3 definitions. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(22):e20495.
50. Samraj RS, Zingarelli B, Wong HR. Role of biomarkers in sepsis care. *Shock.* 2013;40(5):358-65.
51. Gibot S, Cravoisy A, Levy B, Bene M-C, Faure G, Bollaert P-E. Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells and the Diagnosis of Pneumonia. *New England Journal of Medicine.* 2004;350(5):451-8.
52. Jedynak M, Siemiątkowski A, Milewski R, Mroczko B, Szmitkowski M. Diagnostic effectiveness of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in sepsis, severe sepsis and septic shock. *Archives of Medical Science.* 2019;15(3):713-21.
53. Zhao J, Tan Y, Wang L, Shi Y. Discriminatory ability and prognostic evaluation of presepsin for sepsis-related acute respiratory distress syndrome. *Sci Rep.* 2020;10(1):9114.
54. Masson S, Caironi P, Spanuth E, Thomae R, Panigada M, Sangiorgi G, et al. Presepsin (soluble CD14 subtype) and procalcitonin levels for mortality prediction in sepsis: data from the Albumin Italian Outcome Sepsis trial. *Crit Care.* 2014;18(1):R6.
55. Patnaik R, Azim A, Agarwal V. Neutrophil CD64 a Diagnostic and Prognostic Marker of Sepsis in Adult Critically Ill Patients: A Brief Review. *Indian J Crit Care Med.* 2020;24(12):1242-50.
56. Scherpereel A, Depontieu F, Grigoriu B, Cavestri B, Tsicopoulos A, Gentina T, et al. Endocan, a new endothelial marker in human sepsis*. *Critical Care Medicine.* 2006;34(2):532-7.

57. Palud A, Parmentier-Decrucq E, Pastre J, De Freitas Caires N, Lassalle P, Mathieu D. Evaluation of endothelial biomarkers as predictors of organ failures in septic shock patients. *Cytokine*. 2015;73(2):213-8.
58. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, Eto T. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993;192(2):553-60.
59. Piccioni A, Saviano A, Cicchinelli S, Valletta F, Santoro MC, de Cunzio T, et al. Proadrenomedullin in Sepsis and Septic Shock: A Role in the Emergency Department. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(9).
60. Pierrakos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. *Critical Care*. 2010;14(1):R15.
61. Karakoç AE. Güncel Rehberler Işığında Sepsis, Klasik ve Hızlı Tanı Yöntemleri, Ulusal Hemokültür Rehberi
62. Kan Dolaşımı Örneklerinin Laboratuvar İncelemesi Rehberi. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD). 2022.
63. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med*. 2017;43(3):304-77.
64. Doern GV, Carroll KC, Diekema DJ, Garey KW, Rupp ME, Weinstein MP, Sexton DJ. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: A Comprehensive Update on the Problem of Blood Culture Contamination and a Discussion of Methods for Addressing the Problem. *Clinical Microbiology Reviews*. 2019;33(1):10.1128/cmr.00009-19.
65. Smith L, Ali-Napo R, Ben-Zeev D, Olawuyi J. Optimizing Blood Culture Collection Volumes. *Am J Nurs*. 2023;123(11):53-6.
66. Buzard BA, Evans P, Schroeder T. Evaluation of an Initial Specimen Diversion Device (ISDD) on Rates of Blood Culture Contamination in the Emergency Department. *Kans J Med*. 2021;14:73-6.
67. Al Mohajer M, Lasco T. The Impact of Initial Specimen Diversion Systems on Blood Culture Contamination. *Open Forum Infect Dis*. 2023;10(5):ofad182.
68. Weinstein MP. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology, and interpretation of results. *Clin Infect Dis*. 1996;23(1):40-6.

69. Düzenli G, Karabay O. Kan Kültürlerinin Düşük Maliyetli ve Hızlı Ölçülebilmesi İçin Yeni Bir Yaklaşım. Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi. 2014;29(3):0.
70. Rohner P, Auckenthaler R. Review on evaluations of currently available blood-culture systems. *Clinical Microbiology and Infection*. 1999;5(9):513-29.
71. Dorn G, Smith K. New centrifugation blood culture device. *Journal of clinical microbiology*. 1978;7(1):52-4.
72. Stone RB, Steele JCH, Jr. Impact of Reporting Gram Stain Results From Blood Cultures on the Selection of Antimicrobial Agents. *American Journal of Clinical Pathology*. 2009;132(1):5-6.
73. Zasada AA, Mosiej E. Contemporary microbiology and identification of *Corynebacteria* spp. causing infections in human. *Lett Appl Microbiol*. 2018;66(6):472-83.
74. Hata DJ, Hall L, Fothergill AW, Larone DH, Wengenack NL. Multicenter evaluation of the new VITEK 2 advanced colorimetric yeast identification card. *J Clin Microbiol*. 2007;45(4):1087-92.
75. Felmingham D, Brown DF. Instrumentation in antimicrobial susceptibility testing. *J Antimicrob Chemother*. 2001;48 Suppl 1:81-5.
76. Donay JL, Mathieu D, Fernandes P, Prégermain C, Bruel P, Wagnier A, et al. Evaluation of the automated phoenix system for potential routine use in the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol*. 2004;42(4):1542-6.
77. Torres-Sangiao E, Leal Rodriguez C, García-Riestra C. Application and Perspectives of MALDI-TOF Mass Spectrometry in Clinical Microbiology Laboratories. *Microorganisms*. 2021;9(7).
78. De Carolis E, Vella A, Vaccaro L, Torelli R, Spanu T, Fiori B, et al. Application of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *J Infect Dev Ctries*. 2014;8(9):1081-8.
79. Lévesque S, Dufresne PJ, Soualhine H, Domingo MC, Bekal S, Lefebvre B, Tremblay C. A Side by Side Comparison of Bruker Biotyper and VITEK MS: Utility of MALDI-TOF MS Technology for Microorganism Identification in a Public Health Reference Laboratory. *PLoS One*. 2015;10(12):e0144878.

80. Peters RPH, van Agtmael MA, Danner SA, Savelkoul PHM, Vandenbroucke-Grauls CMJE. New developments in the diagnosis of bloodstream infections. *The Lancet Infectious Diseases*. 2004;4(12):751-60.
81. She RC, Bender JM. Advances in Rapid Molecular Blood Culture Diagnostics: Healthcare Impact, Laboratory Implications, and Multiplex Technologies. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*. 2019;3(4):617-30.
82. Millar BC, Xu J, Moore JE. Molecular Diagnostics of Medically Important Bacterial Infections. *Current Issues in Molecular Biology*. 2007;9(1):21-40.
83. Sachse K. Specificity and performance of diagnostic PCR assays. *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ). 2003;216:3-29.
84. McChlery SM, Clarke SC. The use of hydrolysis and hairpin probes in real-time PCR. *Mol Biotechnol*. 2003;25(3):267-74.
85. Cawcutt KA, Peters SG. Severe sepsis and septic shock: clinical overview and update on management. *Mayo Clin Proc*. 2014;89(11):1572-8.
86. Minasyan H. Sepsis: mechanisms of bacterial injury to the patient. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2019;27(1):19.
87. Ramachandran G. Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis: a brief review. *Virulence*. 2014;5(1):213-8.
88. Weinstein MP. Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. *J Clin Microbiol*. 2003;41(6):2275-8.
89. Nygård ST, Langeland N, Flaatten HK, Fanebust R, Haugen O, Skrede S. Aetiology, antimicrobial therapy and outcome of patients with community acquired severe sepsis: a prospective study in a Norwegian university hospital. *BMC Infect Dis*. 2014;14:121.
90. Tavaré A, O'Flynn N. Recognition, diagnosis, and early management of sepsis: NICE guideline. *Br J Gen Pract*. 2017;67(657):185-6.
91. England N. Improving outcomes for patients with sepsis: a cross-system action plan. London: NHS England. 2015.
92. Fathi M, Markazi-Moghaddam N, Ramezankhani A. A systematic review on risk factors associated with sepsis in patients admitted to intensive care units. *Aust Crit Care*. 2019;32(2):155-64.

93. Esper AM, Moss M, Lewis CA, Nisbet R, Mannino DM, Martin GS. The role of infection and comorbidity: Factors that influence disparities in sepsis. *Crit Care Med*. 2006;34(10):2576-82.
94. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med*. 2003;348(16):1546-54.
95. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *Jama*. 1995;273(2):117-23.
96. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med*. 2001;344(10):699-709.
97. Ibarz M, Haas LEM, Ceccato A, Artigas A. The critically ill older patient with sepsis: a narrative review. *Annals of Intensive Care*. 2024;14(1):6.
98. Schupp T, Weidner K, Rusnak J, Jawhar S, Forner J, Dulatahu F, et al. C-reactive protein and procalcitonin during course of sepsis and septic shock. *Ir J Med Sci*. 2024;193(1):457-68.
99. Padkin A, Goldfrad C, Brady AR, Young D, Black N, Rowan K. Epidemiology of severe sepsis occurring in the first 24 hrs in intensive care units in England, Wales, and Northern Ireland. *Critical Care Medicine*. 2003;31(9):2332-8.
100. Baykara N, Akalın H, Arslantaş MK, Hancı V, Çağlayan Ç, Kahveci F, et al. Epidemiology of sepsis in intensive care units in Turkey: a multicenter, point-prevalence study. *Critical Care*. 2018;22(1):93.
101. Andrade-Fernandez JC, Gutierrez-Tobar IF, Londono-Ruiz JP. 1673. Time to positivity of blood cultures in a pediatric hospital: more tools to reconsider empirical treatment in suspected infections. *Open Forum Infectious Diseases*. 2023;10(Supplement_2).
102. Moustos E, Staphylaki D, Christidou A, Spandidos DA, Neonakis IK. Major pathogen microorganisms except yeasts can be detected from blood cultures within the first three days of incubation: A two-year study from a University Hospital. *Exp Ther Med*. 2017;14(6):6074-6.

103. Bıçak İ, Varışlı AN, Peker SA. Kan Kültüründen İzole Edilen Etkenlerin Dağılımı ve Antibiyotik Duyarlılıkları: Dört Yıllık Verilerimiz. Cerrahi Ameliyathane Sterilizasyon Enfeksiyon Kontrol Hemşireliği Dergisi. 2020;1(1):8-19.
104. Sezgin F, Babaoglu U. Blood culture results at a research and training hospital and the importance of training. Nigerian Journal of Clinical Practice. 2019;22(12):1693-7.
105. Şafak B, Kılınç O. 2010-2015 Yılları Arasında Kan Kültürlerinde Üreyen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları. Klimik Journal/Klimik Dergisi. 2016;29(2).
106. Şirin MC, Neval A, Yılmaz N, Bayram A, Hancı SY, Şamlıoğlu P, et al. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2017;74(4):269-78.
107. Küçük B, Arıcan G, Gülderen D, Uğurlu H, Yalçınkaya KT, Murat A. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nde Kan Kültürlerinden İzole Edilen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları. Sakarya Tıp Dergisi. 2019;9(3):485-91.
108. Başustaoglu A, Yıldız S, Mumcuoğlu İ. Kan kültürü uygulamalarının değerlendirilmesi: İşletim sistemi (Epicenter) verilerinin kullanımı. Mikrobiyol Bul. 2019;53(1):12-21.
109. Kutlu O, Arabaci Ç. Evaluation of microorganisms isolated from blood cultures and their susceptibility profiles to antibiotics in five years period. Journal of Surgery and Medicine. 2019;3(10):729-33.
110. CDC A. Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections (2011). Centers for Disease Control. 2011:1-83.
111. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. Clin Microbiol Rev. 2006;19(4):788-802.
112. Kirn TJ, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Controlled clinical comparison of BacT/alert FA plus and FN plus blood culture media with BacT/alert FA and FN blood culture media. J Clin Microbiol. 2014;52(3):839-43.
113. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-Negative Staphylococci. Clinical Microbiology Reviews. 2014;27(4):870-926.

114. Carrara L, Navarro F, Turbau M, Seres M, Morán I, Quintana I, et al. Molecular diagnosis of bloodstream infections with a new dual-priming oligonucleotide-based multiplex PCR assay. *Journal of Medical Microbiology*. 2013;62(11):1673-9.
115. Loonen AJM, de Jager CPC, Tosserams J, Kusters R, Hilbink M, Wever PC, van den Brule AJC. Biomarkers and Molecular Analysis to Improve Bloodstream Infection Diagnostics in an Emergency Care Unit. *PLOS ONE*. 2014;9(1):e87315.
116. Marco F. Molecular methods for septicemia diagnosis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (English Edition)*. 2017;35(9):586-92.
117. Schreiber J, Nierhaus A, Braune SA, de Heer G, Kluge S. Comparison of three different commercial PCR assays for the detection of pathogens in critically ill sepsis patients. *Medizinische Klinik - Intensivmedizin und Notfallmedizin*. 2013;108(4):311-8.
118. Dark P, Blackwood B, Gates S, McAuley D, Perkins GD, McMullan R, et al. Accuracy of LightCycler(®) SeptiFast for the detection and identification of pathogens in the blood of patients with suspected sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2015;41(1):21-33.
119. Van De Groep K, Bos MP, Savelkoul PH, Rubenjan A, Gazenbeek C, Melchers WJ, et al. Development and first evaluation of a novel multiplex real-time PCR on whole blood samples for rapid pathogen identification in critically ill patients with sepsis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2018;37:1333-44.
120. Chang S-S, Hsieh W-H, Liu T-S, Lee S-H, Wang C-H, Chou H-C, et al. Multiplex PCR System for Rapid Detection of Pathogens in Patients with Presumed Sepsis – A Systemic Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE*. 2013;8(5):e62323.
121. Bacconi A, Richmond GS, Baroldi MA, Laffler TG, Blyn LB, Carolan HE, et al. Improved Sensitivity for Molecular Detection of Bacterial and Candida Infections in Blood. *Journal of Clinical Microbiology*. 2014;52(9):3164-74.
122. Erdoğan G, Karakoç AE, Yağcı S, Alp G, Kaymak Ç. Comparison of the Multiplex Real Time Polymerase Chain Reaction Method Directly from Whole Blood and from Blood Culture Bottle with the Conventional Method for the Etiological Diagnosis in Patients with Pre-Diagnosis of Sepsis. *Mikrobiyoloji Bulteni*. 2022;56(3):432-48.

123. Berinson B, Both A, Berneking L, Christner M, Lütgehetmann M, Aepfelbacher M, Rohde H. Usefulness of BioFire FilmArray BCID2 for Blood Culture Processing in Clinical Practice. *Journal of Clinical Microbiology*. 2021;59(8):10.1128/jcm.00543-21.
124. Zengin Canalp H, Bayraktar B. Direct Rapid Identification from Positive Blood Cultures by MALDI-TOF MS: Specific Focus on Turnaround Times. *Microbiol Spectr*. 2021;9(3):e0110321.
125. Harris DM, Hata DJ. Rapid identification of bacteria and *Candida* using PNA-FISH from blood and peritoneal fluid cultures: a retrospective clinical study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2013;12:2.
126. Dunbar SA, Gardner C, Das S. Diagnosis and Management of Bloodstream Infections With Rapid, Multiplexed Molecular Assays. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022;12.
127. Ledebor NA, Lopansri BK, Dhiman N, Cavagnolo R, Carroll KC, Granato P, et al. Identification of Gram-Negative Bacteria and Genetic Resistance Determinants from Positive Blood Culture Broths by Use of the Verigene Gram-Negative Blood Culture Multiplex Microarray-Based Molecular Assay. *J Clin Microbiol*. 2015;53(8):2460-72.
128. Kaleta EJ, Clark AE, Cherkaoui A, Wysocki VH, Ingram EL, Schrenzel J, Wolk DM. Comparative analysis of PCR-electrospray ionization/mass spectrometry (MS) and MALDI-TOF/MS for the identification of bacteria and yeast from positive blood culture bottles. *Clin Chem*. 2011;57(7):1057-67.
129. Tissari P, Zumla A, Tarkka E, Mero S, Savolainen L, Vaara M, et al. Accurate and rapid identification of bacterial species from positive blood cultures with a DNA-based microarray platform: an observational study. *Lancet*. 2010;375(9710):224-30.
130. Huang TD, Melnik E, Bogaerts P, Evrard S, Glupczynski Y. Evaluation of the ePlex Blood Culture Identification Panels for Detection of Pathogens in Bloodstream Infections. *J Clin Microbiol*. 2019;57(2).
131. So MK, Kim SK, Chung HS, Bae JY, Lee M. Large-Scale Clinical Evaluation of Rapid Blood Culture Identification Panels for Bloodstream Infections at a Tertiary Hospital. *Diagnostics (Basel)*. 2023;13(6).

132. Sparks R, Balgahom R, Janto C, Polkinghorne A, Branley J. Evaluation of the BioFire Blood Culture Identification 2 panel and impact on patient management and antimicrobial stewardship. *Pathology*. 2021;53(7):889-95.
133. Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, Trecarichi EM, Posteraro B, Fiori B, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(6):1987-94.
134. Zornic S, Lukovic B, Petrovic I, Jencic A. Prevalence of multidrug-resistant Gram-negative bacteria from blood cultures and rapid detection of beta-lactamase-encoding genes by multiplex PCR assay. *Germes*. 2022;12(4):434-43.
135. Kahraman Kılbaş E, Toptan H, Otlı B, Koroglu M, Altindis M. Karbapenemaz Üreten *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında bla OXA-48 -Benzeri Genlerin Araştırılması Investigation of bla OXA-48 -Like Genes in Carbapenemase Producing *Klebsiella* spp. Isolates. *Mikrobiyoloji bülteni*. 2019;53:134-43.
136. Stürenburg E. Rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from clinical samples: methods, effectiveness and cost considerations. *Ger Med Sci*. 2009;7:Doc06.
137. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2022. Stockholm: ECDC; 2023.
138. Jukes L, Mikhail J, Bome-Mannathoko N, Hadfield SJ, Harris LG, El-Bouri K, et al. Rapid differentiation of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci and methicillin susceptibility testing directly from growth-positive blood cultures by multiplex real-time PCR. *Journal of Medical Microbiology*. 2010;59(12):1456-61.
139. Gagnon S, Lévesque S, Lefebvre B, Bourgault A-M, Labbé A-C, Roger M. vanA-containing *Enterococcus faecium* susceptible to vancomycin and teicoplanin because of major nucleotide deletions in Tn1546. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2011;66(12):2758-62.

140. Hughes D, Andersson DI. Environmental and genetic modulation of the phenotypic expression of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*. 2017;41(3):374-91.
141. Rampini SK, Bloemberg GV, Keller PM, Büchler AC, Dollenmaier G, Speck RF, Böttger EC. Broad-Range 16S rRNA Gene Polymerase Chain Reaction for Diagnosis of Culture-Negative Bacterial Infections. *Clinical Infectious Diseases*. 2011;53(12):1245-51.
142. Grif K, Heller I, Prodinger WM, Lechleitner K, Lass-Flörl C, Orth D. 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):2250-4.
143. Available from: <https://www.biomerieux-usa.com/bact-alert/culture-media>.
144. Abade Dos Santos FA, Portela SJ, Nogueira T, Carvalho CL, de Sousa R, Duarte MD. Harmless or Threatening? Interpreting the Results of Molecular Diagnosis in the Context of Virus-Host Relationships. *Front Microbiol*. 2021;12:647730.

EKLER

EK-1

	T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ Ankara Bilkent Şehir Hastanesi 2 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı
Sayı : E.Kurul –E2-23-4626 No’lu çalışma	
Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği’nde planlanan; Doç. Dr. Sibel AYDOĞAN’ın sorumlu araştırmacısı olduğu “Yoğun Bakım Hastalarından Eş Zamanlı Alınan Kan Örneklerinde Sepsis Sendromik Paneli ve Rutin Kan Kültür Sonuçlarının Değerlendirilmesi: Sepsis Sendromik Panelinin Hasta Yönetimine Katkısı” konulu çalışma incelenmiş olup, Etik açıdan oy birliği ile uygun görülmüştür.	
09/08/2023 Prof. Dr. Fuat Emre CANPOLAT 2 Nolu Etik Kurul Başkanı	
Etik Kurul Sekreterliği Üniversiteler Mah. Bilkent Cad. No:1 Çankaya/Ankara İrtibat; 2nolu Etik Kurul: B.Özkan K.Çetindağ G.Uzun Tel: 0 (312) 552 66 00 Dahili:721197–721198	

EK-2



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Gülhane Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : E-86241737-100-289159
Konu : GTF Tez İnceleme ve Değerlendirme Akademik Kurulu Kararları

12.10.2023

DAĞITIM YERLERİNE

Gülhane Tıp Fakültesi Tez İnceleme ve Değerlendirme Akademik Kurulu, 05.10.2023 tarihinde saat 14:00'da katılımı ile toplanmıştır.
Toplantıda, Dekanlığımızla afileye olan SUAM'larda görevli 59 (elli dokuz) uzmanlık öğrencisine ait tez incelenerek değerlendirilmiş olup; tezlerle ilgili Ek'teki kararların alınmasına oy birliği ile karar verilmiştir.
Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Mehmet Ali GÜLÇELİK
Dekan

Ek:Kurul Kararı

Dağıtım:
Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığına
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanlığına
Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığına
Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığına
Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığına
Hava ve Uzun Hekimliği Anabilim Dalı Başkanlığına
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığına
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığına
Aile Hekimliği Anabilim Dalı Başkanlığına
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Başkanlığına
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığına
Ankara Atatürk Sanatoryum Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğüne
Ankara Gülhane Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğüne
Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğüne
Ankara Şehir Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğüne
Gaziler Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğüne
Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanlığına

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI ANKARA BÜYÜKŞEHİR HASTANESİ
ANKARA BÜYÜKŞEHİR HASTANESİ EVRAK BİRİMİ
13/10/2023, 12:25:56 - E-73200860-000-226808614
226808614
ANKARA BÜYÜKŞEHİR HASTANESİ EVRAK BİRİMİ

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu : *BSCKF0SC7U* Pin Kodu : 11572
Adres: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Yerleşkesi Enrah Mah. 0618
Etilik/Keçiören/ANKARA
Telefon: 0 312 304 61 73 Faks: 0 312 304 61 90
Web: http://sbu.edu.tr
Kep Adresi: sbu@hs01.kep.tr

Belge Takip Adresi : https://www.turkiye.gov.tr/sbu-ebys
Bilgi için: Levent YILDIRIM
Unvanı: Uzman

