



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT SAĞLIK UYGULAMA  
VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

**ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ  
KLİNİĞİ**

**POZİTİF SİNYAL VEREN KAN KÜLTÜRÜ ŞİŞELERİNDEN,  
ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTİ SONUÇLARININ  
EUCAST RAST DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİ İLE SAPTANMASI  
VE BU YÖNTEMİN STANDART DİĞER YÖNTEMLERLE  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. Muhammet Rıdvan Tayşı**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA/2021**





**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT SAĞLIK UYGULAMA  
VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

**ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ  
KLİNİĞİ**

**POZİTİF SİNYAL VEREN KAN KÜLTÜRÜ ŞİŞELERİNDEN,  
ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTİ SONUÇLARININ  
EUCAST RAST DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİ İLE SAPTANMASI  
VE BU YÖNTEMİN STANDART DİĞER YÖNTEMLERLE  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. Muhammet Rıdvan Tayşi**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gönül Çiçek Şentürk**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA/2021**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimime başladığım ilk yıllardan itibaren bilgi, beceri ve tecrübeleriyle yol gösterici olan, örnek tavırları ile yoluma ışık tutan, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen; saygıdeğer hocam Prof. Dr. İrfan ŞENCAN'a,

Tezimin planlanması ve yazım aşamalarında katkılarını esirgemeyen, tecrübelerinden ve bilgilerinden her zaman faydalandığım tez danışmanım, Doç. Dr. Gönül ÇİÇEK ŞENTÜRK'e

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerine başvurduğum, eğitimimde çok büyük katkıları olan değerli hocalarım Doç. Dr. Yunus GÜRBÜZ, Prof. Dr. E. Ediz TÜTÜNCÜ, Doç. Dr.F.Aybala ALTAY ve kliniğimizin tüm değerli uzmanlarına,

Tez çalışmamın her aşamasında bilgisi ve yardımseverliğiyle yanımda olan değerli arkadaşım Dr. Elif Çalışkan'a

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, hem çalışma arkadaşı hem de ailem gibi olan arkadaşlarım Dr. Hanife UZAR, Dr. Derya TUNÇ, Dr. Feray AYCAN, Dr. Orçun SOYSAL, Dr. Ezgi Gizem ŞİBAR, Dr. Merve SİFİL, Dr. Cihad ŞAKAR ve Dr. Zehra Demirbaş'a ve diğer tüm asistan arkadaşlarıma,

Kliniğimizde, birlikte uyum içinde çalıştığımız tüm hemşire, laborant ve personel arkadaşlarıma,

Hayatımın her anında yanımda hissettiğim, bütün başarılarımda en büyük paya sahip olan, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim canım annem Nazlı Canan TAYŞİ, canım babam Bekir Sıtkı TAYŞİ, canım abim Orhan TAYŞİ ve canım kardeşim Ayşe Şule TAYŞİ'ye

Saygı, sevgi ve teşekkürlerimle...

*Dr. Muhammet Rıdvan TAYŞİ*

*Ankara 2021*

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
TABLO LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET .....	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. SEPSİS .....	2
2.1.1. Tanımlar ve Terminoloji.....	2
2.1.1.1. İnfeksiyon: .....	2
2.1.1.2. Bakteriyemi:.....	3
2.1.1.3. Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS): .....	3
2.1.1.4.Sepsis: .....	3
2.1.1.5. Ağır sepsis:.....	3
2.1.1.6 Septik şok:.....	3
2.1.2. Epidemiyoloji .....	4
2.1.3. Etiyoloji .....	5
2.1.4. Sepsis Yönetimi .....	5
2.2. KAN KÜLTÜRÜ .....	6
2.2.1. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Sinyal Veren Kan Kültürü Şişelerinin Değerlendirme Prosedürü.....	7
2.2.1.1. Gram boyama:.....	7
2.2.1.2. Uygun besiyerlerine pasaj, inkübasyon ve değerlendirme:.....	7
2.3. BASİT TANIMLAMA YÖNTEMLERİ, BİYOKİMYASAL TESTLER.....	7
2.3.1. Katalaz Testi .....	8
2.3.2. Koagülaz Testi.....	8
2.3.3. Hızlı Lateks ve Hemaglutinasyon Testleri.....	8
2.3.4. PYR (L-pirolidonil- $\beta$ -naftilamid )Testi .....	9
2.3.5. Optokin Duyarlılığı Testi.....	9

2.3.6. Oksidaz Testi .....	9
2.4. BAKTERİLERİN BASİT TANIMLAYICI TESTLER VE BİYOKİMYASAL YÖNTEMLERLE TANIMLANMASI.....	10
2.4.1. Gram pozitif Bakterilerin Tanımlanması.....	10
2.4.1.1. <i>Staphylococcus</i> spp. 'nin tanımlanması: .....	10
2.4.1.2. <i>Enterococcus faecalis/faecium</i> türlerinin tanımlanması: .....	10
2.4.1.3. <i>Streptococcus</i> spp. türlerinde tanımlama: .....	11
2.4.2. Gram Negatif Bakterilerin Tanımlanması .....	11
2.5. OTOMATİZE SİSTEMLERLE TANIMLAMA .....	11
2.6. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ .....	13
2.6.1. Difüzyon Testleri .....	13
2.6.1.1. Disk difüzyon yöntemi: .....	14
2.6.1.1.1. Disk difüzyon metodolojisi: .....	15
2.6.1.2. Gradient tespiti yöntemi: .....	16
2.6.2. Dilüsyon Yöntemleri.....	16
2.6.2.1. Tüp dilüsyon: .....	16
2.6.2.2. Agar dilüsyon: .....	17
2.6.3. Otomatize Sistemler.....	17
2.7. DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİ İLE DİRENÇ SAPTAMA YÖNTEMLERİ.....	18
2.7.1. Stafilokok Türlerinde Direnç Saptama Yöntemleri .....	18
2.7.1.1. Metisilin direnci: .....	18
2.7.1.2. İndüklenebilir klindamisin direnci (MLS <sub>B</sub> ) (D-zon testi): .....	18
2.7.1.3. Norfloksasin tarama testi: .....	18
2.7.2. Enterokoklarda Direnç Saptama Yöntemleri.....	19
2.7.2.1. Yüksek düzey aminoglikozid direnci (HLAR): .....	19
2.7.3. Streptokok'larda Direnç Saptama Yöntemleri.....	19
2.7.3.1. Oksasilin ile penisilin direncinin saptanması: .....	19
2.7.3.2. İndüklenebilir klindamisin direncinin saptanması: .....	19
2.7.4. Enterobacteriaceae Üyelerinde Direnç Saptama Yöntemleri .....	19
2.7.4.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL/ESBL) varlığının saptanması: .....	19

2.7.4.1.1. ESBL tarama testleri: .....	20
2.7.4.1.2. ESBL fenotipik doğrulama testleri:.....	20
2.7.4.1.2.1. Kombinasyon disk testi (KDT):.....	20
2.7.4.1.2.2. Çift disk sinerji testi (ÇDST):.....	20
2.7.4.2. Karbapenemaz varlığının saptanması: .....	20
2.7.4.2.1. Karbapenemaz tarama testi: .....	21
2.8. POZİTİF KAN KÜLTÜRÜ ŞİŞELERİNDEN DİREKT HIZLI ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTİ (RAST).....	21
2.8.1. EUCAST, Kan Kültüründen Direkt RAST Metodolojisi .....	22
2.8.1.1. Kan kültürü şişelerinin hazırlanması.....	22
2.8.1.2. Kan kültürü şişelerinden doğrudan agar plaklarına inokülasyonu.....	23
2.8.1.3. İnkübasyon ve plakların okunması .....	24
2.8.1.4. RAST yöntemi ile direnç mekanizmalarının taranması.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	29
3.1. RAST Yönteminin Uygulanması .....	29
3.1.1. Dahil Etme/ Hariç Tutma Kriterleri.....	29
3.1.1.1. Dahil etme kriterleri: .....	29
3.1.1.2. Hariç tutma kriterleri:.....	29
3.1.2. Kalite Kontrol .....	30
3.1.3. Kan Kültürü Şişelerinden Doğrudan Agar Plaklarına İnokülasyon ve Disklerin Yerleştirilmesi .....	30
3.1.4. Bakteri Kimliklerinin Basit Tanımlayıcı ve Biyokimyasal Testlerle Erken Tahmini.....	32
3.1.5. İnkübasyon Sonrası Plakların Değerlendirilmesi .....	34
3.2. REFERANS YÖNTEMLER.....	36
3.3. RAST VE REFERANS YÖNTEM KARŞILAŞTIRMASI.....	36
3.4. ESKALASYON / DE-ESKALASYON .....	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. GRAM BOYAMA VE BTT'LER İLE İZOLATLARIN ERKEN ÖNGÖRÜLMESİ VE BU İZOLATLARDA UYGULANAN RAST YÖNTEMİNİN HATA ORANLARI .....	38
4.1.1. <i>Enterobacterales</i> takımı.....	39

4.1.2. Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS) .....	44
4.2. EUCAST RAST METODOLOJİSİNDE ZON SINIR DEĞERLERİ VERİLEN İZOLATLAR İÇİN GERİYE DÖNÜK OLARAK HESAPLANAN GERÇEK KATEGORİK UYUM VE HATA ORANLARI.....	46
4.2.1. <i>Escherichia coli</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	49
4.2.2. <i>A.baumannii</i> ve <i>P.aeruginosa</i> .....	52
4.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	55
4.2.4. <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>Enterococcus faecium</i> .....	56
4.2.5. <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	58
4.3. BULGULARIN KLİNİSYENE BİLDİRİLMESİ VE TEDAVİ KARARINA ETKİSİ.....	58
4.4. EUCAST RAST YÖNERGESİNDE BULUNMAYAN ORGANİZMA- İZOLAT KOMBİNASYONLARI.....	59
5. TARTIŞMA .....	67
5.1. Kısıtlamalar .....	72
6. SONUÇ .....	74
7. KAYNAKLAR .....	76
8. EKLER.....	81
EK-1. FORM-1 .....	81
EK-2. FORM-2.....	82
9. ÖZGEÇMİŞ .....	83

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACCP	: American College of Chest Physicians
ADT	: Antimikrobiyal Duyarlılık Testi
ATU	: Kategorize edilemeyen teknik belirsizlik alanı (Area of Technical Uncertainty)
BH	: Büyük Hata
BTT	: Basit tanımlayıcı test
CLSI	: Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical Laboratory Standards Institute)
ÇA	: Çikolata Agar
ÇBH	: Çok Büyük Hata
ÇDST	: Çift Disk Sinerji Testi
DD	: Disk Difüzyon
EMB	: Eozin-metilen mavisi
EUCAST	: Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
GSBL/ESBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz/Extended spectrum beta-lactamase
H <sub>2</sub> O	: Su
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen Peroksit
I	: Orta duyarlı
KDE	: Kan Dolaşımı Enfeksiyon Enfeksiyonu
KDT	: Kombinasyon Disk Testi
KH	: Küçük Hata
KKA	: Koyun Kanlı Agar
KU	: Kategorik Uyum
MALDI TOF-MS	: Matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi-kütle spektrometrisi
MCA	: MacConkey agar
MHA	: Müller Hinton Agar

MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MRSA	: Metisilin Rezistan <i>Staphylococcus aureus</i>
O <sub>2</sub>	: Oksijen
PaCO <sub>2</sub>	: Parsiyel Karbondioksit Basıncı
PYR	: L-pirolidonil-β-naftilamid
R	: Dirençli
RAST	: Hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi (Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing)
S	: Duyarlı
SCCM	: Society of Critical Care Medicine
SIRS	: Sistemik Enflamatuvar Yanıt Sendromu

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> RAST yönergesinde mikroorganizmalara göre yerleştirilmesi önerilen antibiyotik diskleri.....	23
<b>Tablo 2.</b> Gram boyama sonuçlarına göre Mülller Hinton Agar plaklarına yerleştirilen antibiyotik diskleri .....	31
<b>Tablo 3.</b> <i>Enterobacterales</i> için oluşturulan RAST zon çapı sınır değerleri .....	35
<b>Tablo 4.</b> <i>Enterobacterales</i> için oluşturulan ESBL (tarama) zon sınır değerleri.....	35
<b>Tablo 5.</b> <i>Enterobacterales</i> için oluşturulan karbapenemaz (tarama) zon sınır değerleri.....	35
<b>Tablo 6.</b> İzolatların Gram boyama ve BTT'lere göre öngörülen bakteri tanımlamaları ve Vitek 2 Compact tanımlama sonuçları ile karşılaştırılması .....	39
<b>Tablo 7.</b> <i>Enterobacterales</i> olarak ön görülen izolatların teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin kategorik hata oranları.....	40
<b>Tablo 8.</b> Referans yöntemle <i>E.coli</i> olarak tanımlanan izolatların teorik ve gerçek test sayıları, oluşturulan zon sınır değerlerine göre okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin kategorik hata oranları .....	41
<b>Tablo 9.</b> Referans yöntemle <i>K.pneumoniae</i> olarak tanımlanan izolatların teorik ve gerçek test sayıları, oluşturulan zon sınır değerlerine göre okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin kategorik hata oranları .....	41
<b>Tablo 10.</b> Referans yöntemle <i>E.coli</i> ve <i>K.pneumoniae</i> dışı <i>Enterobacterales</i> olarak tanımlanan izolatların teorik ve gerçek test sayıları, oluşturulan zon sınır değerlerine göre okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin kategorik hata oranları.....	42
<b>Tablo 11.</b> <i>Escherichia coli</i> (n=51) için oluşturulan zon sınır değerlerine göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki türe özgü kategorik hata sayısı .....	42
<b>Tablo 12.</b> <i>K.pneumoniae</i> (n=17) için oluşturulan zon sınır değerlerine göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki türe özgü kategorik hata sayısı .....	43

<b>Tablo 13.</b> <i>E.coli</i> ve <i>K.pneumoniae</i> dışı <i>Enterobacterales</i> (n=12) izolatlarının oluşturulan zon sınır değerlerine göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki türe özgü kategorik hata sayısı .....	43
<b>Tablo 14.</b> KNS olarak ön görülen izolatların teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin kategorik hata oranları.....	45
<b>Tablo 15.</b> Koagülaz negatif stafilokok (n=22) için <i>Staphylococcus aureus</i> zon sınır değerlerine göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki türe özgü kategorik hata sayısı.....	45
<b>Tablo 16.</b> Bakteriyel izolatlar, antimikrobiyal direnç oranları ve direnç mekanizmaları .....	47
<b>Tablo 17.</b> Tüm izolatların teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları .....	49
<b>Tablo 18.</b> <i>Escherichia coli</i> izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları.....	50
<b>Tablo 19.</b> <i>K. pneumoniae</i> izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları.....	51
<b>Tablo 20.</b> <i>Escherichia coli</i> (n=51) izolatlarının türe göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı .....	51
<b>Tablo 21.</b> <i>K. pneumoniae</i> (n=17) izolatlarının 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı .....	52
<b>Tablo 22.</b> <i>P.aeruginosa</i> izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları.....	53
<b>Tablo 23.</b> <i>P.aeruginosa</i> (n=2) izolatlarının türe göre 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı .....	53
<b>Tablo 24.</b> <i>Acinetobacter baumannii</i> izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları.....	54

<b>Tablo 25.</b> <i>Acinetobacter baumannii</i> (n=13) izolatlarının 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı .....	54
<b>Tablo 26.</b> <i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları.....	55
<b>Tablo 27.</b> <i>Staphylococcus aureus</i> (n=10) izolatlarının türe göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı.....	56
<b>Tablo 28.</b> <i>Enterococcus faecalis</i> izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları.....	57
<b>Tablo 29.</b> <i>Enterococcus faecium</i> izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları.....	57
<b>Tablo 30.</b> <i>Enterococcus faecalis</i> (n=11) izolatlarının 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı .....	58
<b>Tablo 31.</b> <i>Enterococcus faecium</i> (n=6) izolatlarının türe göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı.....	58

## ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1.** RAST'ın ADT raporlanma süresine katkısı ..... 22
- Şekil 2.** İnkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde *K.pneumoniae* izolatının Muller-Hinton agar plaklarındaki zon görünümü ..... 25
- Şekil 3.** EUCAST RAST inhibisyon zon sınır değerleri tablosunun kullanım tekniği ..... 27
- Şekil 4.** *E.coli*-ertapenem (ETP) 10 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu ..... 60
- Şekil 5.** *K.pneumoniae*-ertapenem (ETP) 10 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu ..... 61
- Şekil 6.** *E.coli* ve *K.pneumoniae* dışı *Enterobacterales* isolatları-ertapenem (ETP) 10 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu ..... 62
- Şekil 7.** Koagülaz negatif stafilokok-eritromisin (E) 15 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu..... 63
- Şekil 8.** *S.aureus*-eritromisin (E) 15 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu ..... 64
- Şekil 9.** *E.faecalis*-teikoplanin (TEC) 30 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu ..... 65
- Şekil 10.** *E.faecium*-teikoplanin (TEC) 30 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu ..... 66

## ÖZET

### **Pozitif Sinyal Veren Kan Kültürü Şişelerinden, Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Sonuçlarının EUCAST RAST Disk Difüzyon Yöntemi ile Saptanması ve Bu Yöntemin Standart Diğer Yöntemlerle Karşılaştırılması**

**Amaç:** Dünyada kan dolaşımı infeksiyonlarında bakteriyel patojenlerin antibiyotik direncinin giderek artması nedeniyle uygun antibakteriyel tedavinin seçimi giderek zorlaşmaktadır. Bu nedenle, başlanan ampirik tedavinin doğruluğunun en kısa sürede analiz edilmesi ve tedavi revizyonu için hızlı bakteriyel tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testleri (ADT) çok önemlidir. Bu çalışmada pozitif sinyal sonrası, doğrudan kan kültürü şişelerinden EUCAST RAST (hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi) yönteminin hastanemizde uygulanabilirliği ve standart disk difüzyon yöntemine kıyasla bu yöntemin yeteneğinin test edilmesi planlanmıştır. Ayrıca EUCAST RAST 2020 yönergesinde bulunmayan bazı organizma-ajan kombinasyonları için inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde ölçüm yapılarak literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** 30 Kasım 2020 ile 1 Haziran 2021 tarihleri arasında kan kültürü örneklerine RAST prosedürü uygulandı. İnkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde Gram boyama ve basit tanımlayıcı testler (BTT) ile öngörülen bakteri türlerine göre elde edilen kategorik sonuçlar, standart EUCAST 16-20 saatlik disk difüzyon sonuçlarıyla karşılaştırıldı ve bu yöntemin kategorik hata oranları belirlendi. Son bakteri tanımlamaları yapıldıktan sonra da yöntemin gerçek kategorik sonuçları belirlendi. Aynı zamanda EUCAST 2020 RAST yönergesinde bulunmayan bazı organizma-ajan kombinasyonları için inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde zon çapı ölçümleri yapıldı.

**Bulgular:** Yöntemin gerçek kategorik sonuçlarını saptamak için toplam 111 izolat ve 22 antibiyotik değerlendirilerek, 4. saat için 982, 6. ve 8. saat için 998 antibiyotik-bakteri kombinasyonunun kategorik hata oranları araştırıldı. Okunabilen (%88,4, %98,8, %99,9) ve yorumlanabilen (%87,7, %91,2, %92,) zon çapı oranları inkübasyon süresiyle (4. 6. ve 8. saat) artmıştı. Çok büyük hata (ÇBH) oranları inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde sırasıyla % 0,7, %1,3, %1,2, büyük hata (BH)

oranları %0,9, %0,9, %1 olmak üzere kabul edilebilir düzeydeydi. Yöntem Gram boyama ve BTT'ler ile öngörülen bakteri türlerine göre uygulandığında *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter* spp, *Pseudomonas* spp. izolatları için gerçek kategorik sonuçlarla aynı sonuçlar elde edilmiştir. *Enterobacterales* takımı için 80 izolat, 11 antibiyotik değerlendirilerek toplam 880 bakteri-antibiyotik kombinasyonu, *E.coli* ve *K.pneumoniae*'nin EUCAST RAST zon sınır değerlerine göre oluşturulan tablolarla test edildi. Buna göre ÇBH oranları 4. 6. ve 8. saatlerinde sırasıyla % 0,6, %1,4, %1,3, BH oranları %1,1, %0,8, %0,9 olmak üzere kabul edilebilir düzeydeydi. Koagülaz negatif stafilokoklar için *S. aureus*'un EUCAST RAST zon sınır değerleri kullanıldı. Buna göre ÇBH oranları inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde sırasıyla % 0, %1,7, %1,2, BH oranları %0, %1,7, %0 saptandı.

**Sonuç:** EUCAST RAST yöntemi ucuz, kolay ve güvenilir olması nedeniyle birçok laboratuvarında rahatlıkla kullanılabilir. Ancak izolatların erken tanımlanması için pahalı otomatize sistemlerin gerekmesi, yöntemi çoğu laboratuvar için zorlaştırmaktadır. Çalışmamızda Gram boyama ve BTT'ler vasıtasıyla EUCAST RAST yönteminin güvenle uygulanabileceği gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** RAST, EUCAST, Kan kültürü, Basit tanımlama yöntemleri

## ABSTRACT

### **Detection of Antimicrobial Susceptibility Test Results From Positive Signal blood Culture Bottles by EUCAST RAST Disk Diffusion Method and Comparison of This Method With Other Standard Methods**

**Aim:** Due to the increasing antibiotic resistance of bacterial pathogens in bloodstream infections around the world, the selection of appropriate antibacterial therapy is becoming increasingly difficult. Therefore, rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility tests (AST) are very important to analyze the accuracy of the empirical treatment as soon as possible and for treatment revision. In this study, it is planned to test the feasibility of the EUCAST RAST (rapid antimicrobial susceptibility test) method directly from blood culture bottles in our hospital after a positive signal and the ability of this method compared to the standard disc diffusion method. In addition, it is aimed to contribute to the literature by measuring at the 4th, 6th and 8th hours of incubation for some organism-agent combinations that are not included in the EUCAST RAST 2020 directive.

**Method:** Between 30 November 2020 and 1 June 2021, RAST was performed to blood culture samples. The categorical results obtained according to the bacterial species predicted by Gram stain and simple descriptive tests (SDTs) at the 4th, 6th and 8th hours of the incubation were compared with the standard EUCAST 16-20 hour disk diffusion results, and the categorical error rates of this method were determined. At the same time, zone diameter measurements were made at the 4th, 6th and 8th hours of incubation for some organism-agent combinations that are not included in the EUCAST 2020 RAST directive.

**Results:** In order to determine the true categorical results of the method, a total of 111 isolates and 22 antibiotics were evaluated, and the categorical error rates of 982 antibiotic-bacteria combinations at the 4th hour and 998 antibiotic-bacteria combinations at the 6th and 8th hours were investigated. The number of readable (88.4%, 98.8%, 99.9%) and interpretable (87.7%, 91.2%, 92%) zone diameters increased with incubation time (4th, 6th and 8th hours). Very major error (VME) rates

were at acceptable levels at the 4th, 6th and 8th hours of incubation, 0.7%, 1.3%, 1.2%, and major error (ME) rates of 0.9%, 0.9%, and 1%, respectively. When the method was applied according to the bacterial species predicted by Gram stain and SDTs, the same results were obtained with the true categorical results for *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter* spp, *Pseudomonas* spp. isolates. For *Enterobacterales*, evaluating 80 isolates and 11 antibiotics, a total of 880 bacteria-antibiotic combinations were tested with tables created according to EUCAST RAST breakpoints of *E.coli* and *K.pneumoniae*. According to this method, VME rates were at acceptable levels at the 4th, 6th and 8th hours of incubation, 0.6%, 1.4%, 1.3%, and ME rates of 1.1%, 0.8%, 0.9%, respectively. EUCAST RAST breakpoints of *S. aureus* were used for coagulase negative staphylococci. According to this, VME rates were 0%, 1.7%, 1.2%, and ME rates were 0%, 1.7% and 0% at the 4th, 6th and 8th hours of incubation, respectively.

**Conclusion:** EUCAST RAST method can be used easily in many laboratories because it is cheap, easy and reliable. However, the need for expensive automated systems for early identification of isolates makes the method difficult for most laboratories. In our study, it has been shown that the EUCAST RAST method can be applied safely by Gram staining and SDTs.

**Keywords:** RAST, EUCAST, Blood culture, Simple descriptive tests

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis dünya genelinde morbidite ve mortalitenin artışından sorumlu olan başlıca hastalıklardan biridir (1). Yapılan çalışmalarda sepsise bağlı hastane mortalitesinin %20-60 arasında gözlendiği, etkin tedavi ilk bir saatte başlanırsa bu oranın yaklaşık %20, 6 saatten sonra başlanması halinde %70 seviyelerine çıktığı saptanmıştır (2-4). Kan kültürü kan dolaşımı infeksiyonlarının tanı, tedavi ve prognozunu en iyi şekilde belirlemenin yöntemidir (5). Etkatif antimikrobiyal tedavideki gecikmeden, etkenin tanımlanması ve kültür duyarlılığının saptanmasındaki gecikmelerin sorumlu olabileceği düşünülmektedir (6). Günümüzde mikroorganizmaların tanısında ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinde (ADT) çeşitli otomatize sistemler veya disk difüzyon (DD) testleri ve geleneksel tanımlama yöntemleri kullanılmaktadır. Rutin laboratuvarlarda bu yöntemlerden en sık ekonomik, hızlı, kolay ve kontaminasyon riski düşük olmasından dolayı Kirby-Bauer disk difüzyon testi kullanılmaktadır (7). Otomatize sistemlerle bile tanımlama ve antibiyotik duyarlılığı, kan kültür şişerinin pozitif sinyal vermesinden yaklaşık 36 saat sonra yapılabilmektedir. Bu sürenin konvansiyonel disk difüzyon yöntemi ile 48 saate kadar çıkabildiği bilinmektedir. Bu durum etkili antibiyotik tedavisinin başlanmasını geciktirmekte veya başlangıç tedavisi olarak geniş spektrumlu antibiyotiklerin tercih edilmesini zorunlu kılmaktadır. Ayrıca bu durum hastaların hastanede kalış sürelerini uzatmakta ve hastane içi maliyetlerini artırmaktadır (1).

Klinik olarak sepsis düşünülen hastalarda, morbidite ve mortalite oranlarını azaltmak için efektif ampirik antibakteriyel tedavinin en kısa sürede başlanması gerekmektedir. Dünyada bakteriyel patojenlerin antibiyotik direncinin giderek artması nedeniyle, başlanacak uygun antibakteriyel tedavinin seçimi giderek zorlaşmaktadır. Bu nedenle, başlanan ampirik tedavinin doğruluğunun en kısa sürede analiz edilmesi ve tedavi revizyonu için hızlı bakteriyel tanımlama ve ADT'nin önemi giderek artmaktadır. Bu çalışmada pozitif sinyal sonrası, doğrudan kan kültürü şişelerinden EUCAST RAST (hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi) yönteminin hastanemizde uygulanabilirliği ve standart disk difüzyon yöntemine kıyasla bu yöntemin yeteneğinin test edilmesi planlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. SEPSİS

En güncel hali ile sepsis, enfeksiyona karşı gelişen düzensiz konak cevabıyla oluşan ve hayatı tehdit eden organ disfonksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) en maliyetli sağlık bakım problemi olup yıllık maliyetinin ortalama 23,7 milyar dolar olduğu bilinmektedir(8). 2011 yılında ABD'deki toplam hastane maliyetlerinin 20 milyar dolardan (% 5,2) fazlasını sepsis kaynaklı bakım hizmetleri oluşturmuştur (9). Bununla birlikte dünyada yılda 31,5 milyon sepsis, 19,4 milyon ağır sepsis vakasının geliştiği ve bu vakaların 5,3 milyonunun öldüğü tahmin edilmektedir (10). Ortak düşünce sepsisin çok acil bir durum olarak kabul edilmesi (11) ve dünya çapında yüksek ölüm oranı ve artan yüksek sağlık maliyetlerine neden olmasıdır. Zamanında ve etkili antimikrobiyal tedavi başlanmasının bu hastalarda mortalite oranını önemli ölçüde azalttığı bilinmektedir (12).

#### 2.1.1. Tanımlar ve Terminoloji

Sepsis enfeksiyona konağın verdiği sistemik enflamatuvar cevaptır. Önceki yıllarda sepsis ve sepsis ile ilgili klinik durumların tanımlanmasında bakteriyemi, septisemi, sepsis, sepsis sendromu ve septik şok gibi kavramlar kullanılmıştır. 'College of Chest Physicians ve Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM)' 1991 yılında yaptıkları ortak toplantıda sepsis ile ilgili tanımları belirlemişlerdir (13).2001 yılında ACCP/SCCM konferansında daha yeni veriler bulunamamasından dolayı bu tanımlamaların kullanılmaya devam edilmesi planlanmıştır(14).Bu yüzden sepsis, septik şok ve organ disfonksiyonu tanımları büyük ölçüde 20 yıldan fazladır değişmeden kalmıştır (9).Bu tanımlar aşağıdaki gibidir(14):

**2.1.1.1. İnfeksiyon:** Normal steril doku, sıvı veya vücut boşluğunun mikroorganizmalar tarafından istila edilmesinin neden olduğu patolojik bir süreçtir.

**2.1.1.2. Bakteriyemi:** Dolaşımda bakteri bulunmasıdır ve kan kültüründe üreme olması ile tanı konulur

**2.1.1.3. Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS):** Aşağıdaki durumların 2 ya da daha fazlasını bulunması durumudur:

- Vücut ısısı  $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$  ya da  $< 36\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Kalp hızı  $> 90$  atım/dk
- Solunum sayısı  $> 20/\text{dk}$  ya da  $\text{PaCO}_2 < 32\text{ mmHg}$
- Lökosit sayısı  $> 12.000$  hücre/ $\text{mm}^3$  veya  $< 4.000$  hücre/ $\text{mm}^3$  ya da periferik yaymalarında  $> \%10$  immatür hücre formlarının bulunması

**2.1.1.4.Sepsis:** İnfeksiyona karşı oluşan sistemik inflamatuvar cevaptır. Doğrulanmış ya da şüphelenilen infeksiyonun yanında SIRS bulgularından iki veya daha fazlasının bulunmasıdır.

**2.1.1.5. Ağır sepsis:** Sepsisle beraber, hipoperfüzyon ya da hipotansiyona bağlı organ disfonksiyonu bulunması durumudur.

**2.1.1.6 Septik şok:** Uygun sıvı replasmanına karşın hipotansiyon ve perfüzyon bozukluğunun devam etmesidir.

Bu klinik tablolar pankreatit, yanık, cerrahi travma gibi durumlarda infeksiyon eşlik etmeden de oluşabilmektedir. Ayrıca yenidoğan, malignite ve kazanılmış immün yetmezlik sendromu gibi immünsupresif hastalar, travma sonrası ve yaşlı hastalar gibi özel hasta gruplarında mevcut kriterler bulunmaksızın infeksiyon gelişebilmektedir. Bu yüzden bu kriterlerin duyarlılığının yüksek, özgüllüğü düşük olduğu aynı zamanda hastalığın derecesi hakkında bilgi vermediği fark edilmiştir (15). Tüm bu nedenlerle 2016 yılında yapılan “European Society of Intensive Care Medicine” ve “Society of Critical Care Medicine” in uzlaşma toplantısı sonucu Sepsis-3 kriterleri ve tedavi rehberi tanımlanmıştır. Bu yeni rehber ile birlikte tanımlar güncellenirken, SIRS ve ağır sepsis

kavramları kullanımdan kaldırılmıştır(9). Bu kılavuza göre sepsis, kanıtlanmış veya olası infeksiyon varlığında SOFA (Sequential Organ Failure Assessment ) skorunun 2 ya da daha fazla olması, septik şok ise sepsisle beraber hipovolemi olmamak kaydıyla ortalama arteriyel basıncı (OAB) 65 ve üzerinde tutmak için vazopressor gereksinimi duyulması ve serum laktat düzeyinin  $>2$  mmol/L(18 mg/dl) olması olarak tanımlanmıştır(9).

### **2.1.2. Epidemiyoloji**

Sepsis, milyonlarca kişiyi etkileyen küresel bir sağlık sorunudur (10). Sepsis insidansı ABD de yılda 100,000 insanda 535 vaka olarak gösterilmiştir (16). Bununla birlikte dünyada yılda 31,5 milyon sepsis, 19,4 milyon ağır sepsis vakasının geliştiği ve bu vakaların 5,3 milyonunun öldüğü tahmin edilmektedir (10). Gelişmiş ülkelerde daha uzun olan yaşam süresiyle beraber artan kronik hastalıklar, invaziv prosedürler ve immunsupresif tedaviler, kemoterapi ve transplantasyon gibi tedavilerin sonucu olarak bu trendin artarak devam edeceği öngörülmektedir. Son iki dekada mortalite oranlarının yoğun bakım alanındaki gelişme ve yenilikler sayesinde gerilemiş olmasına rağmen batı ülkelerinden gelen son veriler mortalite oranlarının yüksek olduğunu ve sepsisten sağkalımın uzun dönemde yüksek morbidite ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Günümüzde dünyanın toplam nüfusunun üçte birini barındıran orta ve düşük gelirli ülkelerde sepsis epidemiyolojisi ile ilgili geniş çalışmalar çok sınırlıdır. Türkiye’de Sepsis prevalansı ve mortalite oranları genellikle net değildir. Ülkemizde Baykara ve ark.’ın (2013) çok merkezli nokta prevalans çalışmasında 94 hastaneden 132 yoğun bakım ünitesinde 1499 hasta dahil edilmiş ve 260 (%17.3) hastada sepsis, 203 (%13,5) hastada septik şok izlenmiş. SEPSIS-1 Kriterlerine göre incelenen hastalarda mortalite oranları ağır sepsisli hastalarda (%55.7), septik şok görülenlerde (%70.4), yalnız infeksiyon görülenlerde (%24.8), infeksiyon ve SIRS kriterleri gösteren hastalarda (%24.8) olarak görülmüştür (17). Fleischmann ve ark.’nın yüksek gelirli 7 ülkeden 1553 rapor, 45 çalışma, 27 meta-analizin tarandığı çalışmalarında sepsise bağlı mortalite oranının %17, ağır sepsise bağlı mortalitenin ise % 26 olduğunu saptamışlardır (10). Septik şok ise % 50'ye varan yüksek ölüm oranıyla ilişkilidir(18).

### 2.1.3. Etiyoloji

Sepsis tanısı alan hastaların %60'ının etyolojisinde toplum kökenli infeksiyonlar sorumludur. Son yıllarda yapılan analizlerde hastane kökenli sepsis sayısında artış görülmektedir (19). Toplum kökenli sepsiste en sık kaynak, üriner sistem ve yumuşak doku infeksiyonları iken, alt solunum yolları ve batın içi infeksiyonlar ise hastane kökenli sepsisin en sık odağı olarak bildirilmiştir (17).

Sepsis nedeni olarak Gram pozitif organizmaların sıklığı zamanla artarak neredeyse Gram negatif infeksiyonlar kadar yaygın hale gelmiştir (18). Bu artışın kanser hastalarının yaşam sürelerinin artışı, vücut içi protez kullanımının yaygınlaşması, kateter ve periton diyalizi gibi işlemlerin uzun süreli olarak kullanılması sorumlu tutulmaktadır. Son çalışmaların çoğu Gram pozitif organizma insidansının arttığını öne sürmesine rağmen, en son Avrupa Yoğun Bakımda İnfeksiyon Prevalansı (EPIC II) verileri Gram negatif organizmaların daha sık olduğunu bildirmiştir. Bu verilerde enfekte eden organizmaların paternleri, *Staphylococcus aureus* (% 20.5), *Pseudomonas* spp. (% 19.9), *Enterobacteriaceae* (% 16'sı *E.coli*) ve mantarlar (% 19) olmak üzere önceki çalışmalardakilere benzer saptanmıştır. *Acinetobacter* spp. tüm infeksiyonların % 9'unda rol oynarken farklı bölgeler arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. (Kuzey Amerika'da % 3,7 ve Asya'da % 19,2) (20).

### 2.1.4. Sepsis Yönetimi

İlk hedefler, hava yolunu değerlendirmek ve güvence altına almak, yeterli hacim resüsitasyonu sağlamak ve uygun antimikrobiyal tedaviyi uygulamaktır(21). Uygun antimikrobiyal tedavinin ise efektif olması ve mümkün olan en kısa sürede başlanması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda sepsise bağlı hastane mortalitesinin %20-60 arasında gözleendiği, ilk bir saatte tedavi başlanırsa bu oranın yaklaşık %20, 6 saatten sonra başlanması halinde bu oranın %70 seviyelerine çıktığı saptanmıştır (2-4).

## 2.2. KAN KÜLTÜRÜ

Kan kültürü kan dolaşımı infeksiyonlarının tanı, tedavi ve prognozunu en iyi şekilde belirlemenin yöntemidir (5). Kan kültürleri, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen en değerli örneklerden biridir. Özellikle yatan hastalarda morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerinden biri olan bakteriyemi ve fungemilerin belirlenmesinde altın standart kan kültürüdür (22). Kan dolaşımı infeksiyonlarının tanısı, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının en acil ve önemli işlerinden biridir (23, 24). Geliştirilmiş kan dolaşımı infeksiyonları yönetimi, kan kültürü endikasyonlarının genişletilmesini, laboratuvarlarda 24 saat personel bulundurmayı ve hastane personelinin kan kültürü aletlerine 24 saat erişimini içerir (25). Kan dolaşımı infeksiyonlarının ancak %35'inde kan kültürleri pozitif sonuçlansa da bu yöntem etkenin izole edilmesinin yanı sıra antimikrobiyal duyarlılık testlerinin de yapılmasına olanak sağladığı için halen çok değerli bir yöntemdir. Gerçek etkenlerin saptanması ve tüm pozitif bulguların olabildiğince hızlı bir şekilde klinisyene bildirilmesi, ampirik tedaviden etkene yönelik tedaviye geçiş süresini azaltarak morbidite ve mortaliteyi doğrudan etkilemektedir. Kan kültürlerinin uygun endikasyonlarda, uygun dezinfeksiyon ve antisepsi işlemleri yapılarak, uygun miktarda alınması gerekmektedir. Kanda mikroorganizma konsantrasyonunun en yüksek olduğu dönem ateş çıkmasından önceki 30-60 dakikalık dönemdir. Fakat birçok hastada bu dönemin öngörülmesi mümkün olmayacağından, ateş yükselmeye başladıktan sonra en kısa sürede kan kültürü alınmalıdır. Kan kültürleri, antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır. Kontaminasyon riskini azaltmak için kan kültürü alınırken tavsiye edilen öneri kan alınacak bölgenin %70 propil alkol ile temizliği, ardından %1-2'lik iyot tentürü veya bir iodoform ile silinmesidir (22). Klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gelen kan kültürü şişeleri, kan kültürü sistemleri aracılığı ile analiz edilir. Bu sistemlerin takip edilmesi sepsis teşhisi konulmasını büyük ölçüde kolaylaştırmıştır.

## **2.2.1. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Sinyal Veren Kan Kültürü Şişelerinin Değerlendirme Prosedürü**

2.2.1.1. Gram **boyama**: Pozitif sinyal veren kan kültürü şişesinden yapılan en önemli işlem Gram boyamadır. Gram boyanma özellikleri bakterilerin temel olarak sınıflandırmasını sağlar. Ayrıca infeksiyöz etkene hızla ön tanı koyma imkânı sunan kritik bir testtir. Gram boyama ile hem klinik örneklerden direkt ön tanıya varılabilir, hem de kültürlerde üreyen bakterilerin temel morfolojik özelliklerini değerlendirmek mümkün olur. Bakteriler hücre duvarlarının yapı özelliklerine göre “gram pozitif” veya “gram negatif” boyanırlar. Bakterinin boyanma özellikleri ile beraber bakteri hücrelerinin şekli (kok, çomak, kıvrık vb.), büyüklüğü ve bir arada bulunuş özelliklerine de (zincir, kümeler, ikişerli, dörtlü gruplar, Çin harfleri görünümü vb.) bakılır (26).

2.2.1.2. Uygun besiyerlerine pasaj, inkübasyon ve değerlendirme: Şişeden alınan kan örneği koyun kanlı agar (KKA), çikolata agar (ÇA) ve gram-negatif seçici besiyerine (Eozin-metilen mavisi agar (EMB), MacConkey agar (MCA), kromojenik agar vb.) 1-2 damla kan örneği damlatılır ve tek koloni düşürme tekniği ile ekim yapılır. KKA ve ÇA besiyerleri %5 CO<sub>2</sub> 'li ortamda, EMB/MCA plakları normal atmosfer şartlarında, 35-37 °C sıcaklıkta 24-48 saat süreyle inkübe edilir. inkübasyon sonrasında etken olduğu düşünülen tüm mikroorganizmalar için tür düzeyinde tanımlama ve ADT yapılır.

## **2.3. BASİT TANIMLAMA YÖNTEMLERİ, BİYOKİMYASAL TESTLER**

Organizmaların saptanmasında pek çok yöntem olmasına karşılık, klinik laboratuvarlarda en sık kullanılan yöntem, kültürden izole edilen organizmaların biyokimyasal testler ile tanımlanmasıdır. Son yıllarda, büyük eğitim hastaneleri ve referans laboratuvarlarında bakteriye özgü genlerin dizilenmesi veya kütle spektrometrisi gibi proteomik sistemlerle organizmanın tanımlanması, biyokimyasal yöntemlerin yerini almıştır. Bilindiği gibi hastalara başlanan ampirik antimikrobiyal tedavi, mikroorganizma kolonisinin mikroskopik ve makroskopik morfolojisi, hızlı

biyokimyasal testler ve basit tanımlama testleriyle konulan ön tanıya göre başlanmaktadır (27).

### **2.3.1. Katalaz Testi**

Katalaz testi bir mikroorganizmanın katalaz enzimi taşıyıp taşımadığının gösterilmesi amacıyla kullanılır. Bu enzimi taşıyan organizmalar “katalaz pozitif” olarak adlandırılır. Bu test hidrojen peroksitin (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) katalaz enzimi varlığında su (H<sub>2</sub>O) ve oksijene (O<sub>2</sub>) indirgenmesi esasına dayanır. Katalaz, bakteri kolonisi üzerine %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenmesi sonucu köpük ya da hava kabarcıkları gözlenmesi sonucu tespit edilir. Katalaz testi en sık streptokok ve enterokok (katalaz-negatif) ve stafilokokların (katalaz-pozitif) ayırt edilmesinde kullanılmaktadır (26).

### **2.3.2. Koagülaz Testi**

Koagülaz üretimi sayesinde stafilokok türlerinin en patojeni olan *Staphylococcus aureus*'u diğerlerinden ayırabiliriz. Koagülaz, fibrinojenden fibrin oluşturarak pıhtı gelişimine neden olur. Bir test tüpünde(tüp testi) veya lam üzerinde(lam testi) stafilokok inoküle edilmiş plazmanın pıhtılaşması ile saptanabilir. Laboratuvarlar için uygulaması oldukça basit olduğundan, koagülaz testleri *S. aureus* tanısında hızlı bir şekilde ve yüksek bir doğruluk derecesi ile kullanılmaktadır (26).

### **2.3.3. Hızlı Lateks ve Hemaglütinasyon Testleri**

Metisilin-rezistan *S.aureus* (MRSA) kökenlerinde, bağlı koagülazlar olmadığından lam testi negatif çıkabilir. Bazı MRSA'larda ise koagülaz lam testi zayıf pozitif olabilir. Aynı zamanda Protein A'yı da saptayabilmesi nedeniyle lateks kitleri böyle suşların tanımlanmasında koagülaz testinden daha duyarlıdır. Bu testlerin duyarlılıkları çok yüksek (%98-%100) olmakla birlikte özgüllükleri %72-%99 arasındadır. Kapsül polisakariti 8'i taşıyan bazı koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) (*S. haemolyticus* ve *S. hominis*) ve hücre duvarı hemaglütininine sahip *S.saprophyticus* bu testlerde yalancı pozitifliğe yol açabilir (26).

### 2.3.4. PYR (L-pirolidonil-β-naftilamid )Testi

PYR testi başta bazı gram pozitif koklar olmak üzere pek çok bakterinin ayırıcı tanısı için yaygın kullanılan bir testtir. Bazı bakteriler pirolidonil peptidaz enzimi üretirler ve bu enzimin saptanmasında PYR maddesi substrat olarak işlev görür. Peptidazın aktivitesine bağlı olarak substratın yıkılması ile β-naftilamid oluşur ki bu ürün ortama %0.01'lik sinamaldehit reaktifinin katılması ile kırmızı renk meydana getirir (28). PYR hidrolizi ilk *Streptococcus pyogenes* ve enterokokların tanımlanmasında yararlı bir test olarak kullanıma girmiştir. *S. pyogenes* ve enterokok izolatlarının %99'u PYR pozitifdir. Sonraki zamanlarda testin bazı Gram negatif bakterilerin ayırımında da kullanılabileceği keşfedilmiştir (26).

### 2.3.5. Optokin Duyarlılığı Testi

Pnömonokoklar optokine duyarlıdırlar ve çok düşük optokinin konsantrasyonlarında bile üreyemezler. Bu özellik pnömonokokların viridans streptokoklardan ayırıcı tanısında kullanılır. *S. pneumoniae*, agar plakta optokin emdirilmiş diskin etrafında inhibisyon zonu oluşturmasına karşın viridans streptokoklarda böyle bir inhibisyon zonu gözlenmez. Optokin duyarlılığı *S.pneumoniae*'yi kapsüllü suşlarda %99 duyarlılık ve %98-99 özgüllük ile saptayan ideal bir testtir. Bu testte %5 koyun kanlı agar kullanılmalıdır. Çapı 10 mm olan 5 µg'lık disk kullanılmışsa; diskin çevresinde ≥14 mm olan inhibisyon zonu var ise optokin duyarlı kabul edilir. <14 mm ise orta duyarlı, inhibisyon zonu yoksa dirençli kabul edilir(26).

### 2.3.6. Oksidaz Testi

Oksidaz testi, sitokrom oksidaz enzimi üretiminin gösterilmesine dayanır. Sitokrom sistemi sadece oksijeni kullanma yetisine sahip olan aerob organizmalarda mevcuttur. Atmosferdeki oksijen ve su varlığında renksiz bir boya elektron alıcısı olarak işlev görür. Böylece sitokrom oksidaz enzimi olan bakterilerle yapılan bu testte renksiz boya okside edilir ve koyu mor bir bileşik olan indofenol mavisi oluşur(26).

Oksidaz testi özellikle gram negatif bakterilerin ilk tanımlanma basamağında yararlıdır. Bu yüzden tüm gram negatif çomaklara oksidaz testi yapılmalıdır. Bütün *Enterobacteriaceae* üyeleri oksidaznegatifken, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella*, *Campylobacter*, *Pasteurella* ve *Vibrio* kökenleri oksidaz pozitifdir(28).

## **2.4. BAKTERİLERİN BASİT TANIMLAYICI TESTLER VE BİYOKİMYASAL YÖNTEMLERLE TANIMLANMASI**

### **2.4.1. Gram pozitif Bakterilerin Tanımlanması**

2.4.1.1. *Staphylococcus* spp.'nin tanımlanması: Gram boyamada Gram pozitif, yuvarlak, tek tek koklar olarak, çiftli, dörtlü kok kümeleri olarak veya üzüm salkımı görünümünde düzensiz kümeler oluşturmuş koklar olarak görülebilirler. Bu Gram boyama özelliğine sahip olup katalaz testi pozitif olan koklar muhtemel stafilokok olarak yorumlanır. Tür düzeyinde tanımlanmasında *S.aureus*'un koagülaz veya hızlı lateks ve hemaglutiasyon testlerinde pozitif sonuç vermesi kullanılmaktadır. Koagülaz negatif stafilokokların tür düzeyinde tanımlanması daha karmaşık olup ticari tanımlama sistemleri veya türe özgü genlerin gösterilmesi için nükleik asit dizileme teknikleri gerekmektedir (27).

2.4.1.2. *Enterococcus faecalis/faecium* türlerinin tanımlanması: Gram boyamada çiftler ve kısa zincirler halinde görülen Gram pozitif koklar gözlenir. Bu Gram boyama özelliklerine sahip olup katalazı negatif ve PYR testi pozitif olan koklar muhtemel enterokok olarak yorumlanır (27). Ancak bu test özelliklerine *S.pyogenes*'inde sahip olduğu unutulmamalıdır. Enterokok'ların tür düzeyinde tanımlamaları, esas olarak pahalı ve zaman alıcı bir yöntem olan nükleik asit dizilemesi ile yapılmaktadır. Bununla birlikte *E. faecalis*'i *E. faecium*'dan ayırdetmek üzere karbohidrat fermentasyon testleri ve diğer bazı fenotipik testlerden ve/veya antibiyotik direnç profillerinden (*E. faecalis* ampisiline duyarlı, kinupristin-dalfopristine doğal dirençli; *E. Faecium* ise ampisiline doğal dirençli, kinupristin-dalfopristine duyarlıdır) yararlanılır (26).

2.4.1.3. *Streptococcus* spp. türlerinde tanımlama: Gram boyamada çiftler ve zincirler halinde görülen Gram pozitif koklar gözlenir. Bu Gram boyamaya sahip olup katalaz negatif, koagülaz negatif, PYR negatif koklar Streptokok olarak tanımlanır. *S.pneumoniae* diğer streptokoklardan, optokin duyarlılığı ile ayrılabilir. Koklar katalaz negatif, koagülaz negatif, PYR pozitif ise Enterokok ve *S.pyogenes* olma ihtimali vardır. *S.pyogenes* Enterokoklardan, basitrasine duyarlılığı ile ayırt edilebilir (27).

#### **2.4.2. Gram Negatif Bakterilerin Tanımlanması**

Gram negatif bakteriler Gram boyamada basil, kok veya kokobasil şeklinde görülebilirler. Acinetobacter türleri Gram boyamada kok veya kokobasil şeklinde görülür. Gram negatif bakterileri sınıflandırmak için yapılacak ilk basit tanımlayıcı test oksidaz testidir. *Enterobacteriaceae* üyeleri ve Acinetobacter türleri oksidaz negatifken *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella*, *Campylobacter*, *Pasteurella* ve *Vibrio* kökenleri oksidaz pozitifdir (28).

#### **2.5. OTOMATİZE SİSTEMLERLE TANIMLAMA**

Günümüzde en sık kullanılan otomotize sistemler Vitek 2 (BioMérieux), Phoenix (Becton-Dickinson) , Microscan (Siemens Healthcare Diagnostics) dir. Vitek sistemi (Legacy) (bioMérieux) ilk olarak 1980'lerin başında otomatik antimikrobiyal duyarlılık testleri yapmak için tanıtıldı ve daha sonra doğruluğu artırmak için değişiklikler yapıldı. İlerleyen zamanlarda gram negatif bakterilerin tanımlanmasına yönelik güvenilir bir yöntem olması nedeniyle klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında sık kullanılan bir yöntem haline geldi. Vitek 2 sistemi (bioMérieux), Vitek Legacy System ile manuel olarak yapılan birçok prosedürü otomatikleştiren çeşitli teknik iyileştirmelerin yapıldığı bir sistemdir (29). Funke ve meslektaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Vitek 2 sisteminin 70 farklı Enterobacteriaceae ailesi ve non-enterik bakterilerinin % 84,7'sini 3 saat içinde doğru bir şekilde tanımladığı gösterilmiştir(30). Ling ve ark. pozitif kan kültürü şişelerinden Gram negatif basillerin hızlı bir şekilde doğrudan tanımlanması için Vitek 2'yi değerlendirmiş ve suşların 97'sinin (% 82,2) tür düzeyinde doğru şekilde tanımlandığını ve 21 (% 17,8) suşun tanımlanmadığını, yanlış tanımlamanın ise olmadığı bildirmişlerdir (31). İki ek çalışmada, O'Hara ve Miller 482

enterik kültürün tanımlanmasında% 93.0 doğruluk saptamış (32) ve Gavin ve ark. Vitek 2 ile % 95,3 doğruluk (Enterobacteriaceae,% 95,9; Enterobacteriaceae olmayan,% 92,5) bildirmişlerdir (33). Funke ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada, 144 non-fermanter basil'den 133'ü (% 92,4) yeni Vitek 2 sistemiyle doğru bir şekilde (34).Funke ve Funke-Kissling, Vitek 2 Gram pozitif kimlik kartının değerlendirmesini yaptığı ve sonuçları referans yöntemlerle karşılaştırdığı bir çalışmada, 45 *S. aureus*'un % 100'ünü, 33 *S. epidermidis*'in 32'sini, 29 *S. haemolyticus*'un 25'ini, 13 *S. hominis* ve 5 *S. lugdunensis* izolatının tamamını doğru tanımlandığını saptamışlardır (35).

MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight) kütle spektrometrisi (MS), klinik mikrobiyolojide kullanılan kütle spektrometresi türüdür. Bakteri veya maya, test lamı üzerindeki bir konumda matriks ile karıştırılır kütle spektrometrisine yerleştirilir ve nokta lazer tarafından etkinleştirilir. Matriks lazerden gelen enerjinin çoğunu emer ve ısıya dönüştürür. Bu ısı numunenin dış kısmını buharlaştırır. Ortaya çıkan moleküller kütle/yük oranına göre bağlı olarak farklı hızlarda hareket eder. Dolayısıyla uçuş süresi farklı moleküllerin detektöre varışı farklı olacaktır. Mevcut tüm moleküller için uçuş süresinin toplamı bir spektrum üretecektir. Bu spektrum mikrobun tanımlanmasını belirlemek için arşivdeki tüm spektrumlarla elektronik olarak karşılaştırılır ve en uygun bakteri ile eşleştirilerek tanımlanır (29). Bu sistemin yüksek satın alma maliyetine rağmen iş gücü kazancı ve kullanılan malzemeler düşünüldüğünde uzun vadede getirisi fazladır. En büyük avantajları klinik olarak sağladığı katkıdır. Bu cihazlar, çok çeşitli organizmaları dakikalar içinde yüksek doğrulukla tanımlar (36). Doğru organizma tanımlama bilgilerinin tedavi eden doktorlara erken verilmesi, uygun terapötik kapsamı erken sağlama fırsatı verir. İnkübasyon sonrası üremiş mikroorganizmalardan doğrudan tanımanın yanında, pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden çeşitli işlemlerle direk tanımlama da yapılabilmektedir (37).

## 2.6. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

Difüzyon testleri

A. Disk difüzyon yöntemi

B. Gradient tespiti yöntemi

Dilüsyon testleri

A. Agar dilüsyon testleri

B. Tüp dilüsyon testleri

a. Makrodilüsyon yöntemi

b. Mikrodilüsyon testleri (Broth)

Otomatize yöntemler

Antibiyotik duyarlılık testleri klinik laboratuvarlarda; difüzyon testi, dilüsyon testi olmak üzere temel iki yöntemle yapılmaktadır:

### 2.6.1. Difüzyon Testleri

Standart konsantrasyondaki bakteri agar yüzeyine yayılır sonra antibiyotik emdirilmiş disk ya da şeritler agarın üzerine yerleştirilerek 16-20 saat inkübe edilir. Diskin ya da şeridin etrafındaki inhibisyon çapı ölçülerek ADT sonuçları değerlendirilir (27).

2.6.1.1. Disk **difüzyon yöntemi**: Disk difüzyon, antimikrobiyal duyarlılık testine (ADT) yönelik en eski yaklaşımlardan biridir ve rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında en yaygın kullanılan ADT yöntemlerinden biridir. Ucuz ve uygulaması basit olan bu yöntem Kirby Bauer tarafından geliştirilmiştir ve bu isimle de anılmaktadır. Güç üreyen bakteriler dahil olmak üzere bakteriyel patojenlerin çoğunu test etmek için uygun olduğundan çok yönlü bir yöntemdir. Bu yöntemle hemen hemen tüm antimikrobiyal ajanlar küçük laboratuvarlarda bile test edilebilir ve özel bir ekipman gerektirmez. Tavsiyelere göre yapıldığında güvenilir bir yöntemdir (38)

Tüm dokümanlarını ücret karşılığında sunan CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute)'ın dokümanları, ülkemizde uzun yıllar boyunca Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'nin bir çalışma grubu olan Antimikrobiyal Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) Çalışma Grubu tarafından Türkçe'ye çevrilmişse de, çeviri için talep edilen yüksek telif hakkı ücreti ve gerekli izinlerin alınması için gerekli süre gibi etmenler nedeniyle bir takım sorunlar oluşmuştur (26). Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) (EUCAST) tarafından Avrupa MİK(minimum inhibitör konsantrasyon) sınır değerlerinin uyumlaştırılmasının ardından (39)(2003) komite, bu MİK sınır değerlerine göre kalibre edilmiş standart bir disk difüzyon yönteminin geliştirilme sürecini başlattı. Diğer disk difüzyon tekniklerinin çoğunda olduğu gibi, EUCAST yöntemi, Uluslararası Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Ortak Çalışması raporunda tanımlanan ilkelere (40) (1971) ve dünya çapındaki uzman grupların deneyimlerine dayanmaktadır (38). EUCAST'ın tüm dokümanlarını web sitesinde serbest erişime açması, sınır değer tablolarını yılda bir yenilemesi, değişiklik olan bölümlerin kolayca belirlenebilmesi gibi yararları sayesinde geçtiğimiz birkaç yıl içerisinde birçok Avrupa ülkesi CLSI'yı terk edip, EUCAST standartlarını benimsemiştir. Ayrıca uluslararası çapta sürveyans çalışmalarında tüm katılımcılar tarafından aynı yöntemin kullanılması gerekliliği sebebiyle, CLSI'yı takip eden Türkiye, Avrupa merkezli çalışmalara veri sağlayamaz olmuştur. CLSI'ya göre üstünlükleri ve Türkiye'nin yakın çevresi ile ortak çalışmalar yapabilmesi bir gereksinim haline gelmesi sebebiyle 2013 yılı içerisinde Türkiye'de EUCAST

standartlarının kullanılması kararı alınmıştır. EUCAST ve CLSI arasında; test edilen bakteriler, test koşulları, antibiyotik disk içerikleri, sınır değerler, sonuçların değerlendirilmesi ve kalite kontrol kökenlerinde bazı farklılıklar vardır (26).EUCAST disk difüzyon metodolojisinin aşağıdaki açıklaması, EUCAST web sitesinde kılavuzda (2021) (41) ayrıntılı olarak verilen metodolojilerinin bir özetidir. Kılavuzun ilk versiyonu Aralık 2009'da yayınlanmış olup ve her yıl güncellenmektedir.

**2.6.1.1.1. Disk difüzyon metodolojisi:** Bu test, kağıt disklere emdirilen antibiyotiğin, duyarlılığı araştırılan organizmanın inoküle edildiği besiyerine difüze olması temeline dayanmaktadır. Bu amaçla; belli miktarlarda antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler, test edilecek olan mikroorganizmanın inoküle edildiği katı besiyerlerine steril bir pensle yerleştirilir. Diskler bir süre sonra çözünüp agara doğru difüze olurken, inoküle edilen mikroorganizma da çoğalmaya başlar. Belirli bir inkübasyon süresinden sonra ilacın inhibitör konsantrasyonlarının sağlandığı diskin çevresinde üreme görülmez. Mikroorganizma ilaca ne kadar duyarlı ise, diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu o kadar geniş olacaktır. İnhibisyon zonunun çapı mm şeklinde ölçülerek, standart zon tablolarına göre değerlendirmeler yapılır ve mikroorganizmanın kullanılan antimikrobik ajanlara karşı duyarlılık durumu belirlenir. İnokulum süspansiyonu, steril bir öze veya pamuklu çubukla seçici olmayan bir besiyerinde gece boyunca (16–24 saat inkübasyon) büyümeye bırakılır. Morfolojik olarak benzer birkaç koloni seçilerek (mümkünse) ve koloniler steril salin (% 0,85) içinde süspanse edilerek hazırlanır. Bulanıklık oluştuktan sonra McFarland 0.5 ( $10^8$  mikroorganizma / ml)'e göre ayarlanarak standart bir bulanıklık oluşturulur (McFarland standartları, bir sıvı besiyerinde bulunan bakteri sayısını belirlemek amacıyla geliştirilmiştir. McFarland'ın baryum klorür ve sülfirik asit kullanarak geliştirdiği standart bulanıklık tüpleri, sıvı bir besiyerine ekilen bakterinin miktarına eşdeğer bulanıklık derecelerini içerir). Bu süspansiyondan steril bir eküvyon yardımıyla alınan örnek Mueller-Hinton agar yüzeyine inoküle edilir. Takiben farklı antibiyotikleri içeren diskler steril bir pens yardımıyla agar yüzeyine yerleştirilir. Bu işlem yapılırken, oluşacak zonların birbiri üzerine gelmemesi için diskler arasında 22 mm, petri kenarından ise 14 mm uzaklık olmasına dikkat edilmelidir. Daha sonra

besiyerleri 16-20 saat süreyle 35°C'de inkübe edilir ve oluşan inhibisyon zonları ölçülür (38).

EUCAST ve CLSI disk difüzyon metodolojilerinin teknik yönleri, güç üremeyen organizmalar için genel hatları ile aynıdır. Standart inkübasyon süresinde küçük bir fark vardır, CLSI yönteminde 16–18 saat ve EUCAST yönteminde 16–20 saat önerilmektedir ve birkaç ajan için EUCAST, CLSI'dan daha düşük disk içerikleri önermektedir (38).

**2.6.1.2. Gradient tespiti yöntemi:** Katı besiyerinde MİK değerlerinin difüzyon yoluyla saptanması prensibine dayanan bir yöntemdir. E-test yöntemi olarak da adlandırılmaktadır. MİK bir mikroorganizmanın üremesini önleyen en düşük ilaç konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. E-test yönteminde test edilecek bakteri 0.5 McFarland yoğunluğa getirilip MuellerHinton agar yüzeyine steril bir eküvyonla yayılır. Takiben agar yüzeyine, belli bir antibiyotik gradienti içeren E-test şeritleri yerleştirilir. Plaklar 18-24 saat süreyle 35°C'de inkübe edilip MİK değeri belirlenir. MİK değeri şerit etrafında oluşan inhibisyon elipsinin şerit üzerindeki ölçekle kesiştiği noktadır (42).

## **2.6.2. Dilüsyon Yöntemleri**

Dilüsyon testleri, bir antimikrobiyal ajanın bir mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek veya organizmayı öldürmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu (MİK) belirlemek için uygulanır. Dilüsyon testleri "tüp dilüsyon" ve "agar dilüsyon" olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır.

**2.6.2.1. Tüp dilüsyon:** Tüp dilüsyon "makro" ve "mikro" olmak üzere iki şekilde uygulanabilir. Her iki yöntemin de prensibi aynıdır. Makrodilüsyonda test tüpleri, mikrodilüsyonda ise "U" ya da "V" tabanlı "mikroplate"ler kullanılır. Bu yöntemde, antibiyotiğin nutrient besiyerinde seri dilüsyonları hazırlandıktan sonra, standart konsantrasyonda bakteri ekilir. Bir gecelik inkübasyondan sonra antibiyotiğin, bakterinin üremesini inhibe ettiği en düşük konsantrasyon minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak kabul edilir. Sıvı dilüsyon testleri önceleri test

tüplerinde uygulanan oldukça zahmetli yöntemler olmuştur. Günümüzde ticari olarak hazırlanan sistemlere rahatlıkla ulaşılabilmektedir(27).

**2.6.2.2. Agar dilüsyon:** Agar dilüsyon yönteminin prensipleri tüp dilüsyon yöntemiyle aynıdır. Tek fark, agar dilüsyon yönteminde antibiyotik sulandırımının agar içine konması ve petri plaklarına dökülmesidir. Böylece her plakta antibiyotiğin farklı konsantrasyonları bulunur (27).

### **2.6.3. Otomatize Sistemler**

Otomatize duyarlılık sistemlerinde, standart konsantrasyonlarda bakteriler önceden hazırlanmış antibiyotik dilüsyonlu mikropklara inoküle edilir ve MİK değerleri otomatik olarak belirlenir. Dolayısıyla bu sistemler antimikrobiyal MİK değerlerini ölçmek için modifiye bir mikrodilüsyon tekniği kullanılır (43). Bu sistemler sayesinde çok sayıda duyarlılık testi çok kısa sürelerde yapılabilmektedir. Dezavantajı ise antibiyotiklerin üretici tarafından belirlenmesi nedeniyle kullanıma yeni giren bir antibiyotiğin değerlendirilme imkanının olmamasıdır (27). Bu sistemler mikroorganizmaların antibiyotikler ile ilişkili spesifik verilerine sahiptirler (44). Mikroorganizmaların standart büyümesi ile antibiyotikli ortamdaki büyümesi spektrofotometrik olarak okunur. Mikroorganizmaların büyüme hızına göre farklı interpolasyonlar farklı MİK değerlerine eşdeğerdir. Buradaki büyüme eğrileri veri tabanında bulunan standart yorum ve yöntemlerle kıyaslanarak sonuçlar elde edilir (45). Piyasada bulunan en önemli otomatize sistemler Vitek 2 (BioMérieux), Phoenix (Becton-Dickinson) , Microscan (Siemens Healthcare Diagnostics) dir (46).

ADT yöntemleri temel olarak kalitatif ve kantitatif yöntemler olarak da sınıflandırılabilir. Kalitatif yöntemler duyarlı, dirençli, orta duyarlı olarak sonuç verirler. Disk difüzyon yöntemi kalitatif bir yöntemdir. Kantitatif yöntemler de duyarlı, dirençli, orta duyarlı olarak sonuç verirlerken aynı zamanda MİK değerleri de saptanır. Agar dilüsyon, sıvı dilüsyon, gradiyent ve otomatize yöntemler kantitatif yöntemlerdir. Kantitatif sonuç veren yöntemler farmakodinamik yorumlama bakımından daha güvenilirlerdir.

## 2.7. DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİ İLE DİRENÇ SAPTAMA YÖNTEMLERİ

### 2.7.1. Stafilokok Türlerinde Direnç Saptama Yöntemleri

**2.7.1.1. Metisilin direnci:** Stafilokok'larda metisilin direnci saptamada sefoksitin ve oksasilin antibiyotik diskleri kullanılır. Standart miktarlarda, ağara yayılmış stafilokok suşlarının yeterli süre inkübasyonu (16-20 saat) sonrası bu disklerin etrafındaki inhibisyon zonları ölçülür ve European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) veya Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) gibi standardize edilmiş rehberlerden duyarlılık ve direnç durumları değerlendirilir. Buna göre bu disklerin dirençli olması durumunda metisilin dirençli, duyarlı olması durumunda metisilin duyarlı olarak raporlanır(26).

**2.7.1.2. İndüklenebilir klindamisin direnci (MLS<sub>B</sub>) (D-zon testi):** Stafilokok'larda indüklenebilir klindamisin direnci saptamada Eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2µg) diskleri kullanılır. Birbirlerine uzaklıkları merkezden merkeze 15-20 mm olacak şekilde agar yüzeyine yerleştirilir ve plaklar %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 35±2 °C'de 20-24 saat inkübe edilir. Klindamisin diski etrafında oluşan inhibisyon zonu, eritromisin diskine bakan tarafta küntleşme gösteriyorsa bu fenotip 'indüklenebilir klindamisin direnci pozitif' olarak değerlendirilir (D-zon testi)(26) . D-zon var ise antagonist etki mevcuttur ve sonuç klindamisine direnç olarak bildirilir (41)

**2.7.1.3. Norfloksasin tarama testi:** Florokinolon direncinin taraması için 10 µg'lık norfloksasin diskleri kullanılarak tarama testi yapılabilir. Norfloksasin inhibisyon zon çapı ≥17 mm ('S') ise, moksifloksasine 'duyarlı', siprofloksasin, levofloksasin, ve ofloksasine 'duyarlı artan maruziyet' (I) olarak bildirilebilir. Norfloksasin inhibisyon zon çapı <17 mm ('R') ise siprofloksasin ve levofloksasin için ayrıca test edilir ve sonuç bildirilir(41).

## 2.7.2. Enterokoklarda Direnç Saptama Yöntemleri

2.7.2.1. Yüksek düzey aminoglikozid direnci (HLAR): Enterokoklar aminoglikozidlere doğal dirençlidirler ve tedavide bir aminoglikozidin tek başına kullanılması etkisizdir. Kazanılmış yüksek düzey direnç yoksa aminoglikozidler ile penisilin veya glikopeptitler birlikte kullanıldıklarında sinerjistik etki gösterebilirler. Bu nedenle yüksek düzey aminoglikozid direnci test edilmesi önemlidir. Enterokoklarda yüksek düzey gentamisin direnci saptanması; streptomisin dışında tüm aminoglikozidlere yüksek düzey direnç olduğunu gösterir. Streptomisin yüksek düzey direnci ayrıca test edilmelidir. Bu direnç disk difüzyon yönteminde 30 µg gentamisin diski ile belirlenir. 16-18 saat inkübasyon sonrası inhibisyon zon çapı  $\geq 8$  mm ise negatif,  $< 8$  mm ise pozitif olarak değerlendirilir(41).

## 2.7.3. Streptokok'larda Direnç Saptama Yöntemleri

2.7.3.1. Oksasilin ile penisilin direncinin saptanması: *Streptococcus pneumoniae* için geçerli bir testtir. Disk difüzyon yöntemine uygun hazırlanan plakta oksasilin duyarlılığı değerlendirilir. Zon çapı  $< 20$ mm ise penisiline dirençli olabileceğinden, penisilin duyarlılık testi gradiyent test yöntemi çalışılarak MİK değerleri ile tespit edilmelidir(47).

2.7.3.2. İndüklenebilir klindamisin direncinin saptanması: Stafilokoklardaki indüklenebilir klindamisin direnci saptama yöntemi ile aynı şekilde saptanabilir (Bknz. Stafilokok'larda direnç saptama yöntemleri).

## 2.7.4. Enterobacteriaceae Üyelerinde Direnç Saptama Yöntemleri

2.7.4.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL/ESBL) varlığının saptanması: Güncel EUCAST ve CLSI önerilerine göre ESBL saptanması ve enzimlerin tanımlanması infeksiyon kontrolü ve epidemiyolojik izlem açısından önem taşımaktadır (48). ESBL varlığının saptanması, AST sonuçlarını değiştirilmemekle birlikte ilgili servis ve infeksiyon kontrol ekibine direnç mekanizması ve temas önlemleri konusunda bilgi vermesi açısından önemlidir.

**2.7.4.1.1. ESBL tarama testleri:** Disk difüzyon yönteminde ESBL taraması için kullanılan antibiyotik diskleri: sefpodoksim, seftazidim, seftriakson, sefotaksim gibi sefalosporinlerdir. Bu disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçülerek güncel EUCAST ve CLSI önerileri doğrultusunda ESBL taraması yapılır. Tarama sonucu pozitif olan bakteriler fenotipik doğrulama testlerinden biri ile araştırılır(26).

**2.7.4.1.2. ESBL fenotipik doğrulama testleri:** ESBL aktivitesinin in vitro şartlarda klavulanik asit ile inhibisyonu temeline dayanırlar. ESBL doğrulaması için fenotipik yöntemlerden dördü önerilmektedir. Bunlar; çift disk sinerji testi (ÇDS), kombinasyon disk testi (KDT) , ESBL gradiyent testi ve sıvı mikrodilüsyon testidir(49, 50). Bu testlerden KDT, çok merkezli bir çalışma sonucuna göre, ESBL gradiyent testiyle eşit duyarlılığa sahip olup ancak daha özgündür (51). Otomatize sistem üreticileri, duyarlılık test panellerine, ESBL'lerin klavulanik asit ile inhibisyonunu gösterecek şekilde, saptama testleri eklemişlerdir. Sonuçlar, bakteri çeşitlerine ve kullanılan sisteme göre değişmektedir (52).

**2.7.4.1.2.1. Kombinasyon disk testi (KDT):** Bu test için sefalosporin (sefotaksim, seftazidime, sefepim) içeren diskler ile aynı sefalosporinin klavulanik asit eklenmiş kombinasyon diskleri kullanılır. Her ikisinin inhibisyon zonları ölçülerek kıyaslanır. Eğer kombinasyon diski çevresindeki zon, tek başına sefalosporin içeren diskin inhibisyon zonuna kıyasla > 5 mm daha genişse, test pozitifdir (47, 53, 54).

**2.7.4.1.2.2. Çift disk sinerji testi (ÇDST):** Sefalosporin (sefotaksim, seftazidime, sefepim, seftriakson) içeren diskler, plakta klavulanik asit içeren bir diskin (örneğin amoksisilin-klavulanik asit) yanına konur. Sefalosporin disklerinden herhangi birinin zon çapı klavulanik asitdiskine bakan yüzünde genişlerse, test pozitif olarak değerlendirilir. sefalosporin 30µg diskleri için optimal uzaklık 20 mm (merkezden merkeze) olarak belirlenmiştir (47).

**2.7.4.2. Karbapenemaz varlığının saptanması:** Tüm beta-laktamlara dirence yol açmaları nedeniyle karbapenemazlar ciddi bir endişe kaynağı oluşturmaktadır (26). Çünkü karbapenemaz üreten suşlar genellikle diğer direnç mekanizmalarını da taşıdıkları için çoklu dirençlidirler ve yapılan çalışmalarda karbapenemaz üreten

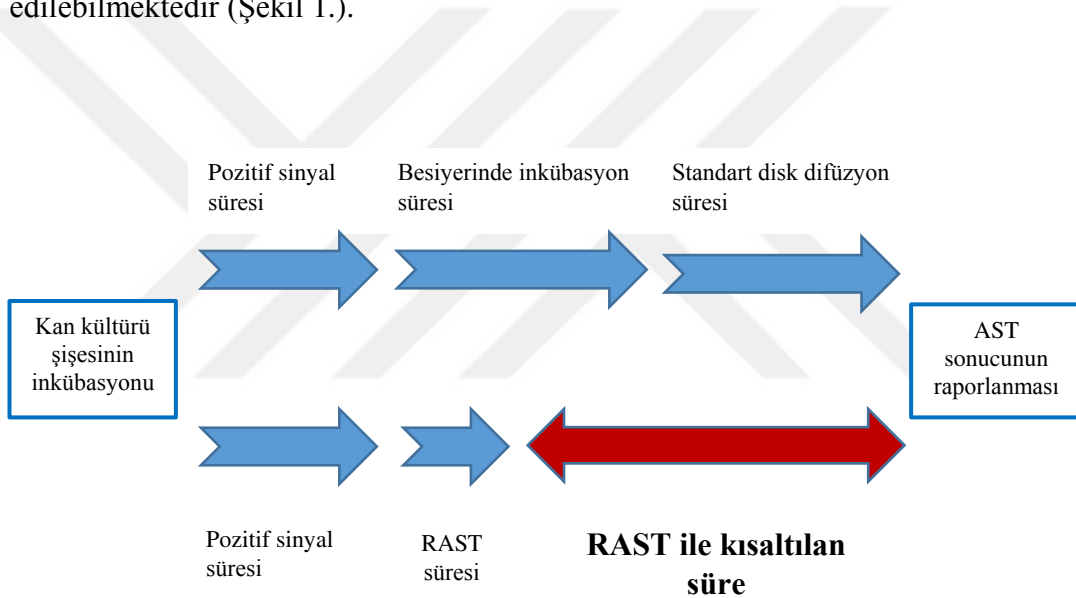
*Enterobacteriaceae* infeksiyonları yüksek mortalite hızları ile ilişkili bulunmuştur(55, 56). Güncel EUCAST ve CLSI önerilerine göre karbapenemaz saptanması infeksiyon kontrolü ve epidemiyolojik izlem açısından önem taşımaktadır. Karbapenemaz varlığının saptanması, duyarlılık test sonuçlarını değiştirmemekte ancak bu sonuçlarla ilgili servis ve infeksiyon kontrol ekibine mekanizma ve temas önlemleri konusunda bilgi verilebilmektedir.

**2.7.4.2.1. Karbapenemaz tarama testi:** Karbapenemaz taranmasında da ESBL'lerde olduğu gibi bazı eşik değerler bulunmaktadır. Bu amaçla özellikle EUCAST değerlerinin ve antibiyotik olarak da meropenemin kullanılması önerilmektedir(47, 57). Ertapenemin duyarlılığı yüksek olmakla beraber özgüllüğü düşüktür(58). Bu disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçülerek güncel EUCAST ve CLSI önerileri doğrultusunda karbapenemaz taraması yapılır. Tarama sonucu pozitif olan bakteriler fenotipik doğrulama testlerinden biri ile araştırılır. Bu fenotipik yöntemler otomatize sistemlere de tanıtılarak karbapenemaz doğrulanması yapılabilmektedir.

## **2.8. POZİTİF KAN KÜLTÜRÜ ŞİŞELERİNDEN DİREKT HIZLI ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTİ (RAST)**

Artan antimikrobiyal dirençle birlikte, hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi (RAST), özellikle kan dolaşımı infeksiyonu (KDE) olan hastalarda giderek daha önemli hale gelmektedir. Bazı çalışmalarda, RAST ve uygun erken tedavinin kan dolaşımı infeksiyonları ve septik şokta klinik sonucu iyileştirdiği gözlenmiştir (59-61). Önemli bir etkiye sahip olması için "hızlı" bir ADT yönteminin, kan kültürü pozitif sinyalinden itibaren 8 saatten daha kısa sürede sonuç vermesi gerekmektedir (37). Pozitif sinyalden 4-6 saat sonra sonuç veren standartlaştırılmış yöntem sayısı çok kısıtlıdır. Bununla birlikte, 4-8 saatlik inkübasyondan sonra inhibisyon bölgelerinin okunmasıyla sonuç veren direkt antimikrobiyal duyarlılık testi 1980'lerden beri kullanılmaktadır (62, 63). EUCAST geleneksel yöntemi (38), 16-20 saatlik inkübasyon için geliştirilmiştir. Disk difüzyon (DD), yönergelere uygun olarak yapıldığında kullanımı kolay, ucuz ve güvenilirdir. Günümüzde birçok laboratuvar EUCAST'in standardize edilmiş disk difüzyon yöntemine aşınadır (64, 65). Ancak

hızlı antimikrobiyal duyarlılık testlerine artan farkındalık ve gereklilik nedeniyle EUCAST’i tüm laboratuvarlarda uygulanabilecek disk difüzyon temelli hızlı bir test geliştirmeye itmiştir (66). Bu nedenle EUCAST Kasım 2018 tarihinde kan kültürü şişesinden direkt RAST yöntemi ve bazı bakteriler için inhibisyon zon çap sınırlarını yayınlamıştır. Bu yöntem EUCAST standart disk difüzyon metodolojisine dayalı, ancak pozitif kan kültürü şişelerinden doğrudan inokülasyon ve daha kısa bir inkübasyon süresi (4, 6 ve 8 saat sonra sonuçların okunması) esasına dayanmaktadır (66). Bu sayede kan kültürü şişesinin pozitif sinyali sonrası, bakterilerin büyümesi için gereken süre (16-24 saat) ve standart DD yöntemi için gereken inkübasyon süresi (16-20 saat) beklenmek yerine RAST ile toplam 4-8 saate ADT sonucu elde edilebilmektedir (Şekil 1.).



**Şekil 1.** RAST’ın ADT raporlanma süresine katkısı

### **2.8.1. EUCAST, Kan Kültüründen Direkt RAST Metodolojisi**

Aşağıda anlatılacak olan RAST yöntemi, EUCAST web sitesinden RAST metodolojisi sayfasından (67) hazırlanmıştır.

#### **2.8.1.1. Kan kültürü şişelerinin hazırlanması**

EUCAST RAST yöntemi, BACTEC (Becton Dickinson), BacT/ALERT (bioMérieux) ve VersaTREK (Thermo Fisher) kan kültürü şişeleri için doğrulanmıştır.

RAST yöntemi, kan kültürü şişesi pozitif sinyal verdikten sonraki 0-18 saat içinde uygulanabilir. RAST yapmaya hazır olunana kadar pozitif şişeler kan kültürü cihazından çıkartılmamalıdır. Bununla birlikte, pozitif şişeler bir yerden başka bir yere taşınması gerekliliği durumunda, cihazdan çıkarttıktan sonra oda sıcaklığında üç saate kadar RAST yapılması gerekmektedir.

### 2.8.1.2. Kan kültürü şişelerinden doğrudan agar plaklarına inokülasyonu

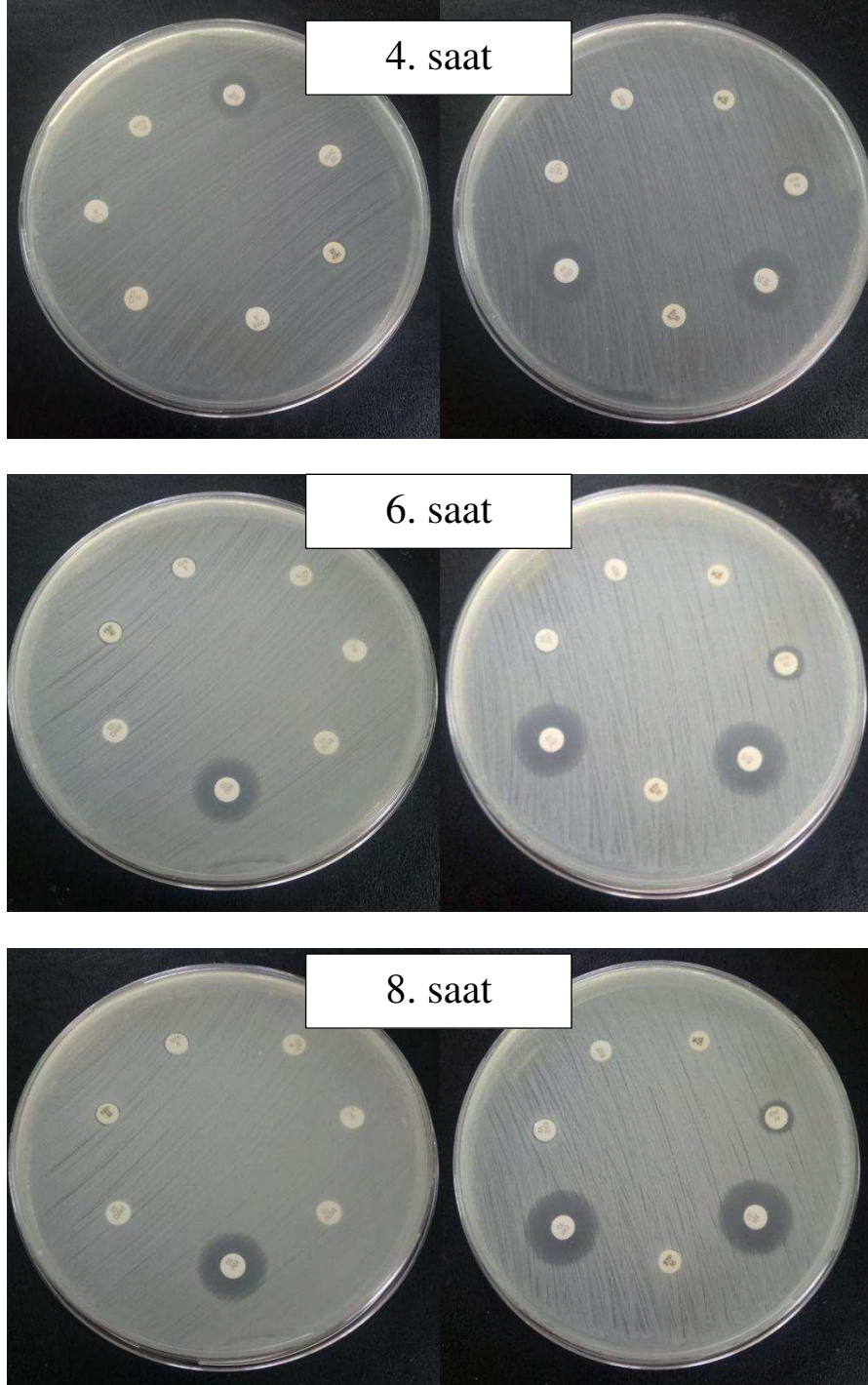
Pozitif kan kültürü şişesinden her Muller-Hinton (MH) plağı için 100-150 µl seyreltilmemiş kan kültürü besiyeri doğrudan alınır. Besiyeri, agar yüzeyinde üç yönde sürülerek nazikçe yayılır ve standart ADT’de olduğu gibi diskler plak üzerine yerleştirilir. RAST 2020 yönergesinde (v 2.0) zon sınır değeri bulunan mikroorganizmalara göre, yerleştirilmesi uygun görülen antibiyotik diskleri Tablo 1’de verilmiştir

**Tablo 1.** RAST yönergesinde mikroorganizmalara göre yerleştirilmesi önerilen antibiyotik diskleri

<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
-Imipenem -Meropenem -Ciprofloxacin -Levofloxacin -Amikacin -Gentamicin -Tobramycin -Trimethoprim-sulfamethoxazole -Piperacillin-tazobactam -Cefotaxime -Ceftazidime -Ceftazidime-avibactam -Ceftolozane-tazobactam	-Imipenem -Meropenem -Ciprofloxacin -Levofloxacin -Amikacin -Gentamicin -Tobramycin -Trimethoprim-sulfamethoxazole -Piperacillin-tazobactam -Cefotaxime -Ceftazidime -Ceftazidime-avibactam -Ceftolozane-tazobactam	-Imipenem -Meropenem -Ciprofloxacin -Levofloxacin -Amikacin -Gentamicin -Tobramycin -Trimethoprim-sulfamethoxazole -Piperacillin-tazobactam -Cefepime -Ceftazidime -Ceftazidime-avibactam -Ceftolozane-tazobactam	-Imipenem -Meropenem -Ciprofloxacin -Levofloxacin -Amikacin -Gentamicin -Tobramycin -Trimethoprim-sulfamethoxazole
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
-Cefoxitin (tarama) -Norfloxacin (tarama) -Gentamicin -Clindamycin	-Ampicillin -Imipenem -Vancomycin -Linezolid -Gentamicin (HLAR için)	-Ampicillin -Imipenem -Vancomycin -Linezolid -Gentamicin (HLAR için)	-Oxacillin (tarama) -Norfloxacin (tarama) -Erythromycin -Clindamycin -Trimethoprim-sulfamethoxazole

### 2.8.1.3. İnkübasyon ve plakların okunması

Planlanan okuma zamanında plaklar (4, 6 ve/veya 8 saat) ( $\pm$  5 dakika içinde) inhibisyon zonları okunur. Gerektiği takdirde, daha sonraki okuma süresinde (6 ve/veya 8 saat) okumak üzere plaklar tekrar inkübasyona kaldırılır. Plaklar 8 saatten daha uzun süre inkübe edilmez ve 8 saatten sonra okunmaz. Standart inkübasyon süresine (16-20 saat) kıyasla 4-8 saat inkübasyon süresi sonunda Muller-Hinton agar plaklarındaki üreme sıklıkla daha silik olması beklenir. İnkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde *K.pneumoniae* izolatının Muller-Hinton agar plaklarındaki zon görünümü örneği Şekil 2’de gösterilmiştir. İnhibisyon zonları sadece zon kenarları belirginse ve yaygın üreme gözleniyorsa okunmalıdır. Test edilen tüm antibiyotik ajanları için inhibisyon bölgelerini bakılan saatlerin tümünde okumak mümkün olmayabilir. Örneğin 4. saatte okunamayan inhibisyon zonu 6. veya 8. saatte rahatça değerlendirilebilir.



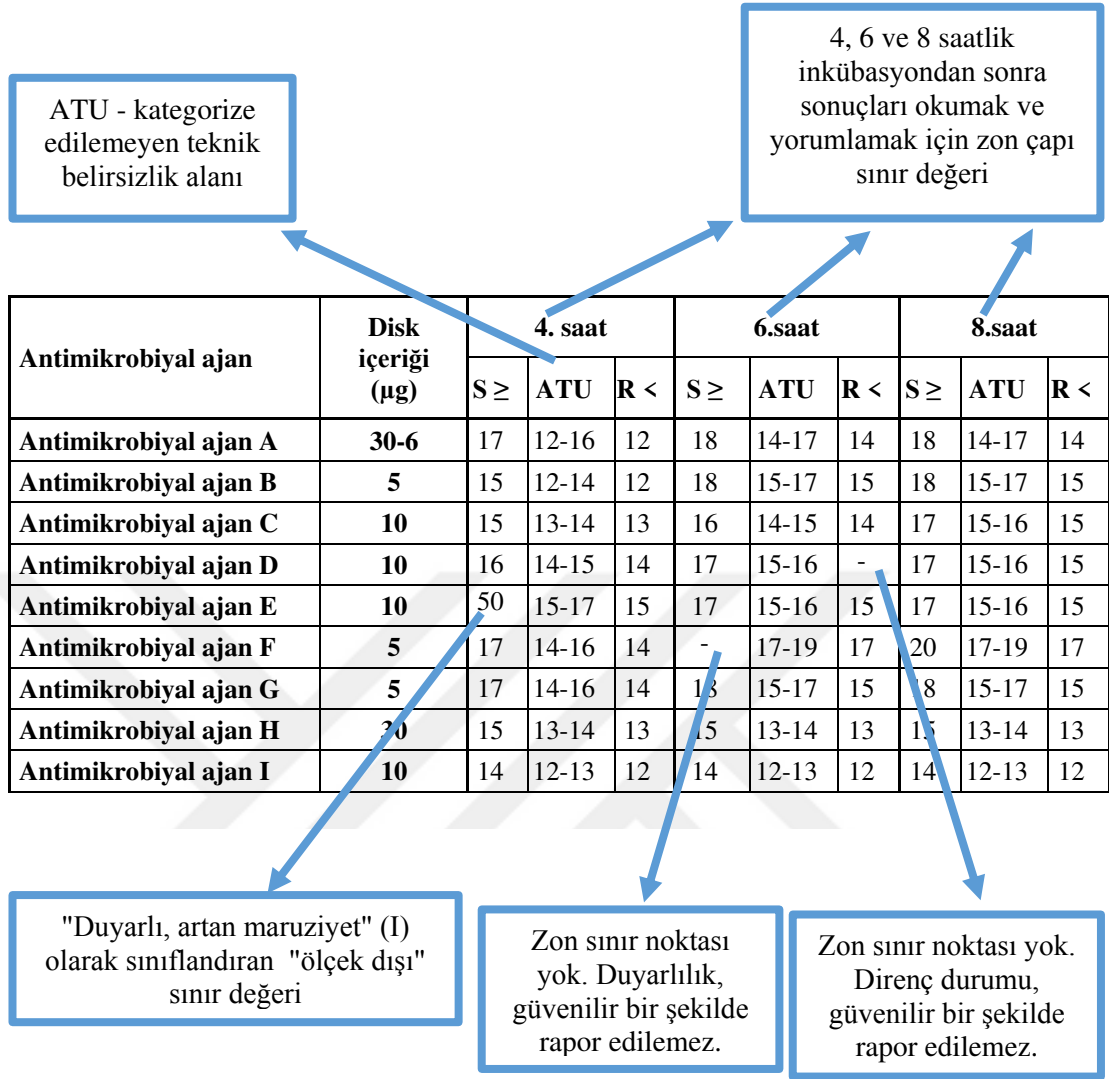
**Şekil 2.** İnkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde *K.pneumoniae* izolatının Muller-Hinton agar plaklarındaki zon görünümü

Yöntem şu bakteriler için doğrulanmıştır:

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*
- *Acinetobacter baumannii*

Bu bakterilerden *Pseudomonas aeruginosa* 'nın inhibisyon zon çapları 6. ve 8. saatte, diğer bakterilerin 4. 6. ve 8. saatte değerlendirilmesi uygun görülmüştür. Yöntem için doğrulanan tüm bakteriler için inhibisyon zon sınır değerleri EUCAST web sitesinde bulunmaktadır (68).

Dolayısı ile bu yöntemin uygulanabilmesi için ADT sonuçlarının yorumlanmadan önce bakteri kimliği bilinmesi gerekmektedir. Tanımlanan bakteri tiplerine göre 4. 6. ve 8. saatlerde EUCAST RAST inhibisyon zon sınır değerleri (68) dikkate alınarak duyarlılık sonuçları ve direnç mekanizmaları belirlenebilir. EUCAST RAST inhibisyon zon sınır değerleri tablosunun nasıl kullanılacağı açıklamalarıyla Şekil 3'de verilmiştir. ATU değerleri, farklı laboratuvarların kullandıkları; non standardize inokulasyon yöntemleri, farklı kan kültürü cihazları ve üretici besiyerleri gibi durumlar nedeniyle oluşan hata oranlarını en aza indirmek için belirlenmiştir (25).



Şekil 3. EUCAST RAST inhibisyon zon sınır değerleri tablosunun kullanım tekniği

#### 2.8.1.4. RAST yöntemi ile direnç mekanizmalarının taranması

ESBL ve karbapenemaz tarama testi: RAST prosedüründe *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* için doğrulanmıştır. ESBL taranma pozitifliği 4. 6. ve 8. Saatlerde sefotaksim ve/veya seftazidim zon çaplarının, karbapenemaz tarama pozitifliği ise 6. ve 8. Saatlerde meropenem zon çapının EUCAST'ın belirttiği sınırların altında olmasıyla tanımlanabilir (69).

İndüklenebilir klindamisin direnci (MLS<sub>B</sub>) testi: RAST prosedüründe *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pneumoniae* için doğrulanmıştır. Bir

klindamisin (2 µg) diski ve bir eritromisin (15 µg) diski 6-12 mm aralıklı (uçtan uca) yerleştirilir. 6 ve 8 saat sonra bir D fenomeni aranır. Bu testin pozitif olması güvenilirdir ancak negatif sonuç vermesi indüklenabilir direncin olmadığını garanti etmez.

Yüksek düzey aminoglikozid direnci (HLAR): RAST prosedüründe *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* için doğrulanmıştır. Gentamisin (30 µg) diski, yüksek düzey aminoglikozid direncini saptamak için kullanılır. HLAR pozitifliği 4. 6. ve 8. saatlerde bu disk etrafında inhibisyon çapının RAST sınır değerinden küçük olması ile tanımlanır.

Aynı zamanda, RAST yönteminde *Staphylococcus aureus* için sefoksitin (30 µg) ve norfloksasin (10 µg) diskleri ile sırası ile metisilin direnci ve florokinolon direnci, *Streptococcus pneumoniae* için oksasilin (1 µg) ve norfloksasin (10 µg) diskleri ile sırasıyla beta-lactam ve florokinolon direnci saptamak için zon sınır değerleri bulunmaktadır.

Bu direnç testleri için de değerlendirilen saatlerde bakterinin tanımlanmış olması gerekmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. RAST Yönteminin Uygulanması

##### 3.1.1. Dahil Etme/ Hariç Tutma Kriterleri

Bu çalışma, T.C Sağlık Bakanlığı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen kan kültürü örneklerinde pozitif üreme sinyali saptanan izolatlar üzerinde yapılmıştır.

**3.1.1.1. Dahil etme kriterleri:** İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına 30.11.2020- 01.06.2021 tarihleri arasında gönderilen kan kültürü örneklerinin Gram boyasında;

- Gram pozitif bakteriler görülenler için; gelen kan kültür setinin tüm şişelerinde pozitif üreme sinyali alınan, şişelerden yapılan Gram boyamada Gram pozitif bakteri görülen kan kültür şişelerinden herhangi biri
- Gram negatif bakteriler görülenler için; gönderilen kan kültür setinin herhangi bir şişesinde pozitif üreme sinyali alınan, şişeden yapılan Gram boyamada gram negatif bakteri görülen kan kültür şişelerinden herhangi biri

##### 3.1.1.2. Hariç tutma kriterleri:

- Aynı hastanın, farklı epizotlarda alınan kan kültürlerinde aynı etkenin ürediği örnekler
- Gram pozitif bakteriler için; gönderilen kan kültürü setinin, tüm şişelerinde pozitif üreme sinyali olmayan örnekler
- Gram pozitif bakteriler için; kan kültürü şişelerden alınan örneğin direk kültürünün son değerlendirmesinde farklı türde kontaminant bakterinin üremiş olması

- Pozitif sinyal veren şişelerin Gram boyamasında birden fazla morfoloji ve boyanma özelliğine sahip mikroorganizmaların (bakteri/mantar vb.) görülmesi
- Kan kültürü şişelerden alınan örneğin direk kültürünün son değerlendirmesinde, birden fazla türde mikroorganizma üremesi

### **3.1.2. Kalite Kontrol**

EUCAST, prosedürü ve ADT materyallerini doğrulamak için düzenli olarak kalite kontrolü (KK) yapılmasını önerir. EUCAST üç KK suşu için 4, 6 ve 8 saatlerde zon sınır değeri kriterleri geliştirmiştir (E. coli ATCC 25922, S. aureus ATCC 29213 ve S. pneumoniae ATCC 49619). Kriterler, RAST zon sınır değeri tablolarında mevcuttur. KK prosedürü, esas olarak yeni RAST prosedürün uygulanmasını kalibre etmek ve doğrulamak için gerçekleştirilir. Prosedür oluşturulduktan sonra yeni personel veya yeni materyallerin (kan kültürü sistemi veya besiyerinde veya disklerde değişiklik gibi) alınmasına kadar RAST KK gerekli değildir. Bu çalışmanın başlangıcında EUCAST'ın önerdiği şekilde KK yapılmış sonraki süreçte de ayda bir KK tekrarlanmıştır. RAST KK için EUCAST'ın önerdiği prosedür şu şekildedir:

EUCAST'ın önerdiği KK suşları, kan kültürü şişelerine 1 mL 100-200 CFU / mL çözeltisi (yaklaşık 0,5 McFarland'ın 1: 100 000 seyreltilmiş çözeltisi) oranlarda oluşturularak aşılabilir üzerine yaklaşık 5 mL steril kan eklenir. Aşılabilir şişeler, kan kültürü cihazında inkübe edilir ve pozitif sinyal alındığında açıklanan metodolojiye göre işlenir. RAST sınır değerleri tablosunda KK suşları için oluşturulmuş zon sınır değerlerine göre değerlendirilir.

### **3.1.3. Kan Kültürü Şişelerinden Doğrudan Agar Plaklarına İnokülasyon ve Disklerin Yerleştirilmesi**

BacT/ALERT (bioMérieux) 3D otomatize kan kültürü inkübasyon sisteminde pozitif üreme sinyali alınan kan kültür şişelerinden alınan örneklerden yapılan Gram boyama sonuçları; gram pozitif kümeli kok, gram pozitif zincirli kok, gram negatif bakteri şeklinde sınıflandırıldı. Alınan örnekler EUCAST 2019 RAST yönergesine

göre (67) Müller Hinton Agar(MHA) plaklarına standart miktarda (100-150 µl) inoküle edildi. Hem tanımlama hem de ADT çalışılması için belirlenmiş antibiyotik diskleri inoküle edilen agarlara, Gram boyama ve morfolojik sınıflandırmaya göre aşağıdaki gibi yerleştirildi (Tablo2):

- Gram pozitif kümeli kok görülenlere; *Staphylococcus aureus*'a,
- Gram pozitif zincirli kok görülenlere; *Enterococcus* spp. ve *Streptococcus pneumoniae*'a göre
- Gram negatif bakteri görülenlere; *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'a göre

Aynı zamanda AST için referans yöntem olarak belirlenen standart EUCAST disk difüzyon metodunun uygulanabilmesi için pozitif üreme sinyali veren kan kültürü şişelerinden alınan örnekler Koyun Kanlı Agar %5 (KKA) ve Eosin-Metilen-Blue (EMB) besiyerlerine de inoküle edildi ve bu plaklar 37°C de 16-24 saat inkübe edildi.

**Tablo 2.** Gram boyama sonuçlarına göre Müller Hinton Agar plaklarına yerleştirilen antibiyotik diskleri

Organizma	Yerleştirilen antibiyotik diskleri
Gram pozitif kümeli kok paneli (1 plak) ( <i>Staphylococcus aureus</i> )	Cefoxitin 30 µg Norfloxacin 10 µg Gentamicin 10 µg Erythromycin 15 µg Clindamycin 2 µg Linezolid 10 µg*
Gram pozitif zincirli kok paneli (2 plak) ( <i>Streptococcus pneumoniae</i> ve <i>Enterococcus</i> spp)	<u>Plak-1(%5 Kanlı Mueller-Hinton agar)</u> Oxacillin 1 µg Norfloxacin 10 µg Erythromycin 15 µg* Clindamycin 2 µg Trimethoprim-sulfamethoxazole 1.25-23.75 µg Optochin* Bacitracin*
	<u>Plak-2 (Mueller-Hinton agar)</u> Ampicilin 2 µg Imipenem 10 µg Vancomycin 5 µg Linezolid 10 µg Gentamicin 30 µg Teicoplanin 30 µg*

**Tablo 2. (Devam)** Gram boyama sonuçlarına göre Müller Hinton Agar plaklarına yerleştirilen antibiyotik diskleri

Gram-negatif paneli (2 plak) ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> )	<u>Plak 1 ve 2 (Mueller-Hinton agar)</u> Piperacillin-tazobactam 30-6 µg Cefotaxime 5 µg Amikacin 30 µg Gentamicin 10 µg Tobramycin 10 µg Ceftazidime 10 µg Imipenem 10 µg Meropenem 10 µg Ertapenem 10 µg* Ciprofloxacin 5 µg Levofloxacin 5 µg Trimethoprim-sulfamethoxazole 1.25-23.75 µg
---	--

\*RAST yönergesinde sınır değeri olmamasına rağmen yerleştirilen antibiyotik diskleri

### 3.1.4. Bakteri Kimliklerinin Basit Tanımlayıcı ve Biyokimyasal Testlerle Erken Tahmini

EUCAST RAST metodunun uygulanabilmesi için bakteri tanımlanmasının zon çapı ölçümü sırasında (4. 6. ve 8. saatlerde) yapılması gerekmektedir. EUCAST'ın bu erken tanımlama işlemiyle ilgili önerisi bulunmamakla beraber literatürde genellikle MALDI-TOF MS sistemi kullanılmıştır. Ancak bu sistemin o dönemde hastanemizde bulunmaması ve bu gibi otomatize sistemlerin mevcut olmadığı merkezlerde de EUCAST RAST yönteminin kullanılabilmesine yol göstermesi açısından bu çalışmada erken tanımlama için Gram boyama ve bazı basit tanımlayıcı testler (BTT) tercih edilmiştir. Bunun için İnkübasyonun 4. 6. veya 8. saatlerinde plaklarda üreyen bakterilere Gram boyama özelliğine göre şu testler kullanılmıştır:

- Basit tanımlayıcı testler: Oksidaz, katalaz, ticari hızlı lateks aglütinasyon testi (BD BBL staphyloslide Latex Test Kiti), PYR testi

- Antibiyotik diskleri: Ampisilin (2 µg), optokin, basitrasin diskleri

Bu testlere göre inkübasyonun 4. 6. veya 8. saatlerinde bakteri öngörülmesi şu planlamaya göre yapılmıştır:

- Gram boyamada Gram pozitif kümeli kok görülüp katalaz testi pozitif, lateks hızlı test pozitif ise; *Staphylococcus aureus*
- Gram boyamada Gram pozitif kümeli kok görülüp katalaz testi pozitif, lateks hızlı test negatif ise; Koagulaz negatif stafilokok
- Gram boyamada Gram pozitif zincirli kok görülüp katalaz testi negatif, PYR pozitif, Basitrasin dirençli, Ampisilin duyalı ise; *Enterococcus faecalis*
- Gram boyamada Gram pozitif zincirli kok görülüp katalaz testi negatif, PYR pozitif, Basitrasin dirençli, Ampisilin dirençli ise; *Enterococcus faecium*
- Gram boyamada Gram pozitif zincirli kok görülüp katalaz testi negatif, PYR pozitif, Basitrasin duyarlı ise; *Streptococcus pyogenes*
- Gram boyamada Gram pozitif zincirli kok görülüp katalaz testi negatif, PYR negatif, optokin duyarlı ise; *Streptococcus pneumoniae*
- Gram boyamada Gram pozitif zincirli kok görülüp katalaz testi negatif, PYR negatif, optokin dirençli ise; diğer streptokok türleri
- Gram boyamada Gram negatif basil görülüp oksidaz testi negatif ise; *Enterobacterales* takımı
- Gram boyamada Gram negatif kok-kokobasil görülüp oksidaz testi negatif ise; *Acinetobacter* spp.
- Gram boyamada Gram negatif basil görülüp oksidaz testi pozitif ise; *Pseudomonas* spp.

Bu yöntemlere göre öngörülen bakteri tanımlamaları, inkübasyonun 16-24. saatlerinde standart tanımlama yöntemi olarak belirlenen Vitek 2 Compact (BioMérieux) ile tanımlanan sonuçlarla karşılaştırılarak hata oranları belirlenmiştir.

### 3.1.5. İnkübasyon Sonrası Plakların Değerlendirilmesi

Belirlenen saatlerde (4. 6. ve 8. saat) ( $\pm$  5 dakika içinde) plaklarında oluşan inhibisyon zon çapları ölçüldü. İnhibisyon zon sınırları ve koloni üremesi belirgin olmayan plaklar 'Okunamadı' şeklinde raporlanarak daha sonraki okuma süresinde (6. veya 8. saat) okumak üzere tekrar etüve kaldırıldı. Gram boyama ve BTT'ler ile öngörülen mikroorganizmalara göre EUCAST 2020 d-RAST yönergesinde zon sınır değerleri verilen bakteriler için belirtilen değerlere göre duyarlı (S), dirençli (R) ve teknik belirsiz alan (ATU) sonuçları belirlendi. İnkübasyonun 4. 6. ve 8. saatleri için yorumun yapılabileceği (S veya R), yorumun yapılamayacağı(ATU) sonuçların oranları belirlendi. RAST sınır değerlerinde ATU teknik belirsizlik alanları mevcut olup, orta duyarlı (I) sonuç için sınır değeri bulunmamaktadır.

Basit tanımlayıcı ve biyokimyasal testler aracılığı ile ;

Tür düzeyinde saptanabilen *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae* izolatlarının AST sonuçları, RAST yönergesinde verilen zon sınır değerlerine göre saptanmıştır.

Cins düzeyinde tanımlanan *Acinetobacter* spp. AST sonuçları, RAST yönteminde zon sınır değerleri verilen *Acinetobacter baumannii*'ye göre, *Pseudomonas* spp. ise *Pseudomonas aeruginosa*'ya göre belirlenmiştir.

*Enterobacterales* üyesi olarak tanımlananlar için; RAST yönteminde zon sınır değerleri verilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*'nin zon sınır değeri birleştirilerek yeni bir tablo oluşturulmuştur (Tablo 3). Bu tablo oluşturulurken bu iki bakteriden 'duyarlı' (S) ve 'dirençli' (R) sınır değerleri en büyük olan olanlar dikkate alınmıştır. ADT sonuçları bu tabloya göre saptanmıştır. Burada amaç klinisyene verilen yanlış duyarlılık sonuçlarını en aza indirmektir.

Koagülaz negatif stafilokok olarak tanımlananlar; RAST yönteminde KNS için zon sınır değeri bulunmadığından *Staphylococcus aureus* zon sınır değerlerine göre ADT sonuçları belirlenmiştir.

**Tablo 3.** *Enterobacterales* için oluşturulan RAST zon çapı sınır değerleri

Antimikrobiyal ajan	Disk içeriği (µg)	4. saat			6.saatt			8.saatt		
		S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <
Piperacillin-tazobactam	30-6	17	12-16	12	18	14-17	14	18	14-17	14
Cefotaxime	5	15	13-14	13	18	15-17	15	18	15-17	15
Ceftazidime	10	15	13-14	13	16	14-15	14	17	15-16	15
Imipenem	10	16	14-15	14	17	15-16	15	17	15-16	15
Meropenem	10	18	15-17	15	17	15-16	15	17	15-16	15
Ciprofloxacin	5	18	15-17	15	20	17-19	17	20	17-19	17
Levofloxacin	5	17	14-16	14	18	15-17	15	18	15-17	15
Amikacin	30	15	13-14	13	15	13-14	13	15	13-14	13
Gentamicin	10	14	12-13	12	14	12-13	12	14	12-13	12
Tobramycin	10	14	12-13	12	15	13-14	13	15	13-14	13
Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25-23.75	12	10-11	10	14	12-13	12	14	12-13	12

Tanımlanan *Enterobacterales* üyeleri için; RAST yönteminde ESBL direnç taraması için verilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*'nin zon sınır değeri birleştirilmiş ve bu iki bakterinin en büyük sınır değerleri dikkate alınarak yeni bir tablo (Tablo 4 ve 5) oluşturulmuştur. Direnç tarama sonuçları ise bu tabloya göre saptanmıştır. Bu sonuçlar referans olarak belirlenen yöntemin direnç sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Burada amaç, erken direnç taramasında klinisyene bilgi verilirken yanlış negatif bildirim oranını en aza indirmektir.

**Tablo 4.** *Enterobacterales* için oluşturulan ESBL (tarama) zon sınır değerleri

Takım	Antimikrobiyal ajan	ESBL tarama sınır değerleri		
		4. saat	6.saatt	8.saatt
<i>Enterobacterales</i>	Cefotaxime 5 µg	<15	<18	<18
	Ceftazidime 10 µg	<15	<16	<17

**Tablo 5.** *Enterobacterales* için oluşturulan karbapenemaz (tarama) zon sınır değerleri

Takım	Antimikrobiyal ajan	Karbapenemaz tarama sınır değerleri		
		4. saat	6.saatt	8.saatt
<i>Enterobacterales</i>	Meropenem 10µg	-	<20	<20

Gram boyama ve BTT'ler ile öngörülen bakteri kimlikleri, EUCAST RAST sınır değerleri ve tarafımızca oluşturulan zon sınır değeri tabloları (EUCAST RAST'a göre) değerlendirilerek saptanan AST ve direnç tarama sonuçları, referans yöntemlerle karşılaştırılarak hata oranları saptanmıştır. Aynı zamanda 4. 6. veya 8. saatlerde elde

edilen bu sonuçlar, hastanın antibiyotik tedavisini düzenleyecek olan infeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji hekimine bildirilmiştir. Bu bildirim sırasında; bu sonuçların ön sonuç olduğu, kesin ADT sonucunun standart yöntemle göre belirleneceği dolayısıyla hastaya zarar vermemek açısından de-eskalasyon yapılmaması önerilmiştir. Çalışma tamamlandıktan sonra bu bildirim hekimenin tedavi kararı üzerine etkisi geriye dönük olarak değerlendirilmiştir.

### **3.2. REFERANS YÖNTEMLER**

KKA ve EMB besiyerlerinin 16-24 saat inkübasyonu sonrası bu plaklardan referans olarak belirlenen yöntemler çalışılmıştır. Referans tanımlama yöntemi olarak Vitek 2 Compact (BioMérieux) sistemi, referans AST için EUCAST standardize disk difüzyon (DD) methodu (41) belirlenmiştir. Direnç taraması için bazı yöntemler (ESBL için çift disk sinerji testi, karbapenemaz için VİTEK-2 otomatize sistem sonuçları, indüklenebilir klindamisin direnci için D-zon testi) ve standart EUCAST DD testi zon sınır değerleri (41) (yüksek düzey aminoglikozid direnci için gentamisin, metisilin direnci için sefoksitin, florokinolon direnci için norfloksasin diski zon sınır değerleri) referans testler olarak belirlenmiştir.

### **3.3. RAST VE REFERANS YÖNTEM KARŞILAŞTIRMASI**

RAST yöntemiyle saptanan ATU sonuçları, sınıflandırma yapılamadığı için hata hesaplamalarından muaf tutulmuştur. Aynı zamanda belirlenen saatlerde inhibisyon zon sınırları ve koloni üremesi belirgin olmayan zonlar 'okunamayan zon' olarak adlandırılmış, hata oranları hesaplanırken bu zonlar dikkate alınmamıştır. Okunamayan zonlar ve ATU değerleri çıkarıldıktan sonra elde edilen sonuçlar (S ve R sonuçları), referans değer olan EUCAST standart disk difüzyon yöntemi sonuçları ile karşılaştırılarak çok büyük hata (ÇBH; referans yöntem = R iken RAST = S), büyük hata (BH; referans yöntem =S iken RAST = R) ve küçük hata (KH; referans değeri = orta duyarlı (I) iken RAST= S veya R) oranları belirlendi. RAST zon çapları değerlendirilirken EUCAST RAST zon sınır tablo değerleri v 2.0 (2020) (68) ve tarafımızca oluşturulan zon sınır değerleri (Tablo 3, 4 ve 5), referans yöntem olarak

belirlenen standart disk difüzyon yöntemi ile zon çapları değerlendirilirken EUCAST zon sınır değerleri v 10.0 (2020) (41) kullanılmıştır.

Bununla beraber, RAST ile elde edilen direnç sonuçları, referans yöntemlerle elde edilen direnç sonuçları ile karşılaştırılarak iki yöntem arasındaki uyuma bakılmıştır.

Aynı zamanda inkübasyonun 16-20. saati sonrası plaklardan; referans tanımlama yöntemi olarak belirlenen Vitek 2 Compact (BioMérieux) ile bakteri tanımlamaları yapıldıktan sonra EUCAST RAST metodolojisinde zon sınır değerleri verilen bakteriler için geriye dönük olarak gerçek kategorik uyum ve hata oranları saptanmıştır.

EUCAST RAST yönergesinde zon sınır değeri olmayan bazı organizma/ajan kombinasyonları (*Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* için ertapenem, *Staphylococcus aureus* için eritromisin ve linezolid, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* için teikoplanin) için 4. 6. ve 8. saatlerde antibiyotik zon sınır değerleri ölçülerek literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

### **3.4. ESKALASYON / DE-ESKALASYON**

Beta-laktamlar arasında eskalasyon ve de-eskalasyon kriterleri belirlenirken Weiss ve arkadaşlarının kullandığı kriterlerden yararlanılmıştır (70). Buna göre beta-laktam antibiyotiklerin spektrum sıralaması: 1. derece amoksisilin, 2. derece amoksisilin+kalvunik asit veya ampisilin+sulbaktam, 3. derece 3.kuşak sefalosporinler (pseudomonas etkisiz), 4. derece piperasilin/tazobaktam, 4.kuşak sefalosporinler, 3. Kuşak antipseudomonal sefalosporinler, 5. derece ertapenem, 6. derece imipenem, meropenem şeklindedir. Bunların dışında hastanın aldığı antibiyotiğe spektrum genişletmek amacıyla başka bir antibiyotik eklenmesi ya da bu antibiyotiğin benzer spektrumlu başka bir antibiyotikle değiştirilmesi de eskalasyon olarak kabul edilmiştir. Beta laktam dışı antibiyotiklerin spektrum skorları belirlenirken Madaras-Kelly ve ark.'ın yaptıkları çalışmadan yararlanılmıştır (71).

## 4. BULGULAR

### 4.1. GRAM BOYAMA VE BTT'LER İLE İZOLATLARIN ERKEN ÖNGÖRÜLMESİ VE BU İZOLATLARDA UYGULANAN RAST YÖNTEMİNİN HATA ORANLARI

Çalışmanın planlandığı 30.11.2020 ve 01.06.2021 tarihleri arasında 145 izolat çalışmaya dahil edilmiştir. Bu izolatların 95'i Gram negatif, 50'si Gram pozitif bakteriler idi. İzolatların tür tanımlamaları Tablo 6'da verilmiştir. Tablo 6'da ayrıca BTT'ler ile öngörülen tanımlama sonuçları ile Vitek 2 Compact (BioMérieux) sonuçları karşılaştırılmıştır. Buna göre 4. 6. veya 8. saatlerde Gram boyama ve BTT'ler sayesinde yapılan tanımlamalar ile bakterilerin tamamı başarılı bir şekilde öngörülmüştür. *Staphylococcus aureus* (10), *Enterococcus faecalis* (11), *Enterococcus faecium* (6), *Streptococcus pneumoniae* (1) izolatlarının hepsi tür düzeyinde tanımlanmıştır. Bu yüzden EUCAST RAST sınır değeri tabloları kullanılarak gerçek kategorik hata oranları ile aynı oranlar elde edilmiştir. *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp. izolatları cins düzeyinde tanımlanmıştır. *Pseudomonas* spp. olarak tanımlanan izolatların referans yöntemle *Pseudomonas auriginosa* (2), *Acinetobacter* spp. olarak tanımlanan izolatların *Acinetobacter baumannii* (13) saptanması nedeniyle bu izolatlarda da EUCAST RAST sınır değeri tabloları kullanılarak gerçek kategorik hata oranları ile aynı oranlar tespit edilmiştir.

**Tablo 6.** İzolatların Gram boyama ve BTT'lere göre öngörülen bakteri tanımlamaları ve Vitek 2 Compact tanımlama sonuçları ile karşılaştırılması

Gram boyama ve BTT sonuçları	Öngörülen bakteriler/N	Vitek 2 Compact tanımlaması/N
Gram (+) kümeli kok, katalaz (+), lateks test (+)	<i>Staphylococcus aureus</i> (10)	<i>Staphylococcus aureus</i> (10)
Gram (+) kümeli kok, katalaz (+), lateks test (-)	KNS (22)	<i>S.epidermidis</i> (13) <i>S.hominis</i> (3) <i>S.haemolyticus</i> (2) <i>S.lugdunensis</i> (1) <i>S.simulans</i> (1) <i>S.capitis</i> (1) <i>S.caprae</i> (1)
Gram (+) zincirli kok, katalaz (-), PYR(+), A (R), AM (S)	<i>Enterococcus faecalis</i> (11)	<i>Enterococcus faecalis</i> (11)
Gram (+) zincirli kok, katalaz (-), PYR(+), A (R), AM (R)	<i>Enterococcus faecium</i> (6)	<i>Enterococcus faecium</i> (6)
Gram (+) zincirli kok, katalaz (-), PYR(+), P (S)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (1)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (1)
Gram (-) basil, oksidaz(-)	<i>Enterobacterales</i> (80)	<i>Escherichia coli</i> (51) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (17) <i>Enterobacter aerogenes</i> (3) <i>Enterobacter cloacae</i> (3) <i>Serratia mercerscens</i> (4) <i>Proteus mirabilis</i> (1) <i>Raoutella ornithinolytica</i> (1)
Gram (-) kok-kokobasil, oksidaz(-)	<i>Acinetobacter</i> spp. (13)	<i>Acinetobacter baumannii</i> (13)
Gram (-) basil, oksidaz(+)	<i>Pseudomonas</i> spp. (2)	<i>Pseudomonas auriginosa</i> (2)

BTT: Basit tanımlayıcı test, KNS: Koagulaz negatif stafilokok, AM: Ampisilin (2 µg), A: Basitrasin, P: Optokin, Lateks test: Ticari hızlı lateks aglütinasyon testi (BD BBL staphyloslide Latex Test Kiti), S: Duyarlı, R: Dirençli

#### 4.1.1. *Enterobacterales* takımı

Gram boyama ve BTT'ler ile *Enterobacterales* olarak öngörülen 80 izolat için, referans yöntemle 51'inin *Escherichia coli*, 17'sinin *Klebsiella pneumoniae*, 3'ünün *Enterobacter aerogenes*, 3'ünün *Enterobacter cloacae*, 4'ünün *Serratia mercerscens*, 1'inin *Proteus mirabilis*, 1'inin *Raoutella Ornithinolytica* olarak tanımlandığı gözlenmiştir. *Enterobacterales* takımı için 80 izolat, 11 antibiyotik toplam 880 bakteri-antibiyotik kombinasyonu test edildi. İnkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde sırasıyla, okunabilen zonların oranı % 94,7, % 99,8 ve % 99,9 ve yorumlanabilenlerin (ATU dışı sonuçlar) oranı %88,1, %89,9 ve %92olarak saptanmıştır. ÇBH oranları 4. 6. ve 8. saatlerinde sırasıyla % 0,6 (4), %1,4 (11), %1,3 (10), BH oranları %1,1 (8), %0,8 (6), %0,9 (7) ve KH oranları %1,5 (11), %1,3 (10), %1,1 (9) saptanmıştır. Testin

toplam hata oranları 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %3,2, %3,4, %3,3 kategorik uyumu (KU) ise % 96,8, %96,6, %96,7 olarak belirlenmiştir (Tablo7).

**Tablo 7.** *Enterobacterales* olarak ön görülen izolatların teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin kategorik hata oranları

<i>Enterobacterales</i> (n=80)	İnkübasyon Süresi		
	4.saat	6.saat	8.saat
Teorik test sayısı <sup>a</sup>	880	880	880
Tamamlanan test sayısı <sup>b</sup>	863	873	863
Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %) <sup>c</sup>	817 (94,7)	871 (99,8)	862 (99,9)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	97 (11,9)	88 (10,1)	69 (8,0)
S	490 (60,0)	531 (61,0)	541 (62,8)
R	230 (28,2)	252 (28,9)	252 (29,2)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	4 (0,6)	11 (1,4)	10 (1,3)
Büyük Hata (BH)	8 (1,1)	6 (0,8)	7 (0,9)
Küçük Hata (KH)	11 (1,5)	10 (1,3)	9 (1,1)
Toplam Hata	23 (3,2)	27 (3,4)	26 (3,3)

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılamadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

Vitek 2 Compact sisteminin *E.coli* olarak tanımladığı izolatlar tarafımızca oluşturulan tabloya göre (Tablo 3) geriye dönük olarak değerlendirildiğinde testin toplam hata oranlarının 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %3,3 %3,8, %3,9, *K. pneumoniae* izolatları için %3 %2,4, %1,8, *E.coli*, *K. pneumoniae* haricindeki diğer *Enterobacterales* izolatları için %3,6 %3,5, %2,8 olarak ayrı ayrı hesaplanmıştır (Tablo 8, 9 ve 10). *Enterobacterales* izolatları içinde ÇBH'lerin en sık nedeni *E.coli*-amikasin kombinasyonu kaynaklıydı. KH ise en sık *E.coli*-seftazidim kombinasyonu ilişkiliydi. BH'ler belirli bir antibiyotik çeşidinde yoğunlaşmamıştı (Tablo 11, 12 ve 13).

**Tablo 8.** Referans yöntemle *E.coli* olarak tanımlanan izolatların teorik ve gerçek test sayıları, oluşturulan zon sınır değerlerine göre okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin kategorik hata oranları

<i>Escherichia coli</i> (n=51)	İnkübasyon Süresi		
	4.saat	6.saat	8.saat
<b>Teorik test sayısı<sup>a</sup></b>	561	561	561
<b>Tamamlanan test sayısı<sup>b</sup></b>	544	555	555
<b>Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %)<sup>c</sup></b>	505 (92,8)	554 (99,8)	554 (99,8)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	61 (12,1)	53 (9,6)	40 (7,2)
S	299 (59,2)	336 (60,6)	346 (62,5)
R	145 (28,7)	165 (29,8)	168 (30,3)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	4 (1,0)	10 (2,0)	10 (1,9)
Büyük Hata (BH)	4 (1,0)	2 (0,4)	4 (0,8)
Küçük Hata (KH)	6 (1,4)	7 (1,4)	6 (1,2)
Toplam Hata	14(3,3)	19 (3,8)	20 (3,9)

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılmadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

**Tablo 9.** Referans yöntemle *K.pneumoniae* olarak tanımlanan izolatların teorik ve gerçek test sayıları, oluşturulan zon sınır değerlerine göre okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin kategorik hata oranları

<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=17)	İnkübasyon Süresi		
	4.saat	6.saat	8.saat
<b>Teorik test sayısı<sup>a</sup></b>	187	187	187
<b>Tamamlanan test sayısı<sup>b</sup></b>	187	187	187
<b>Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %)<sup>c</sup></b>	182 (97,3)	186 (99,5)	187 (100,0)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	17 (9,3)	17 (9,1)	16 (8,6)
S	101 (35,2)	103 (35,5)	105 (35,3)
R	64 (55,5)	66 (55,4)	66 (56,1)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	-	1 (0,6)	-
Büyük Hata (BH)	1 (0,6)	1 (0,6)	1 (0,6)
Küçük Hata (KH)	4 (2,4)	2 (1,2)	2 (1,2)
Toplam Hata	5 (3,0)	4 (2,4)	3 (1,8)

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I , Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılmadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

**Tablo 10.** Referans yöntemle *E.coli* ve *K.pneumoniae* dışı *Enterobacterales* olarak tanımlanan izolatların teorik ve gerçek test sayıları, oluşturulan zon sınır değerlerine göre okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin kategorik hata oranları

Diğer <i>Enterobacterales</i> türleri (n=12)	İnkübasyon Süresi		
	4.saat	6.saat	8.saat
Teorik test sayısı <sup>a</sup>	132	132	132
Tamamlanan test sayısı <sup>b</sup>	132	131	121
Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %) <sup>c</sup>	130 (98,5)	131 (100,0)	121 (100,0)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	19 (14,6)	18 (13,7)	13 (10,7)
S	90 (69,2)	92 (70,2)	90 (74,4)
R	21 (16,2)	21 (16,0)	18 (14,9)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	-	-	-
Büyük Hata (BH)	3 (2,7)	3 (2,7)	2 (1,9)
Küçük Hata (KH)	1 (0,9)	1 (0,9)	1 (0,9)
Toplam Hata	4 (3,6)	4 (3,5)	3 (2,8)

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılamadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

**Tablo 11.** *Escherichia coli* (n=51) için oluşturulan zon sınır değerlerine göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki türe özgü kategorik hata sayısı

İnkübasyon Süresi	4.saat				6.saat				8.saat			
	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH
TZP	43/24	-	-	-	50/18	-	-	-	50/14	-	-	-
CTX	45/3	-	-	-	51/5	1	-	-	51/3	1	-	-
CAZ	45/7	-	-	5	51/7	-	-	6	51/3	-	-	6
MEM	46/3	-	-	1	51/2	-	-	1	51/2	-	1	-
CIP	47/6	-	-	-	51/5	-	-	-	51/4	-	-	-
AN	49/3	2	2	-	51/2	4	-	-	51/2	4	1	-
GM	47/2	-	-	-	51/-	1	-	-	51/1	1	-	-
TOB	47/6	1	-	-	50/8	2	-	-	50/7	2	-	-
IMP	48/3	-	-	-	51/2	-	-	-	51/2	-	-	-
SXT	44/-	-	1	-	48/-	-	1	-	48/-	-	1	-
LEV	44/4	1	1	-	49/4	2	1	-	49/2	2	1	-
<b>Toplam</b>	<b>478/57</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>554/53</b>	<b>10</b>	<b>2</b>	<b>7</b>	<b>554/40</b>	<b>10</b>	<b>4</b>	<b>6</b>

TZP: Piperacillin-tazobactam 30-6 µg, CTX: Cefotaxime 5 µg, AN: Amikacin 30 µg,

GM: Gentamicin 10 µg, TOB: Tobramycin 10 µg, CAZ: Ceftazidime 10 µg, IMP: Imipenem 10 µg,

MEM: Meropenem 10 µg, CIP: Ciprofloxacin 5 µg, LEV: Levofloxacin 5 µg,

SXT: Trimethoprim-sulfamethoxazole 1.25-23.75 µg

**Tablo 12.** *K.pneumoniae* (n=17) için oluşturulan zon sınır değerlerine göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki türe özgü kategorik hata sayısı

İnkübasyon Süresi	4.saat				6.saat				8.saat			
	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH
TZP	16/6	-	-	-	17/6	-	-	-	17/6	-	-	-
CTX	16/1	-	-	-	17/1	-	-	-	17/1	-	-	-
CAZ	16/1	-	-	-	16/1	-	-	-	17/2	-	-	-
MEM	17/1	-	-	4	17/3	-	-	2	17/3	-	-	2
CIP	17/2	-	-	-	17/1	-	-	-	17/1	-	-	-
AN	17/1	-	1	-	17/-	1	-	-	17/1	-	-	-
GM	17/-	-	-	-	17/-	-	-	-	17/-	-	-	-
TOB	17/-	-	-	-	17/2	-	-	-	17/1	-	-	-
IMP	17/4	-	-	-	17/2	-	1	-	17/-	-	1	-
SXT	15/-	-	-	-	17/-	-	-	-	17/-	-	-	-
LEV	17/1	-	-	-	17/1	-	-	-	17/1	-	-	-
<b>Toplam</b>	<b>182/17</b>	<b>-</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>186/17</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>187/16</b>	<b>-</b>	<b>1</b>	<b>2</b>

TZP: Piperacillin-tazobactam 30-6 µg, CTX: Cefotaxime 5 µg, AN: Amikacin 30 µg, GM: Gentamicin 10 µg, TOB: Tobramycin 10 µg, CAZ: Ceftazidime 10 µg, IMP: Imipenem 10 µg, MEM: Meropenem 10 µg, CIP: Ciprofloxacin 5 µg, LEV: Levofloxacin 5 µg, SXT: Trimethoprim-sulfamethoxazole 1.25-23.75 µg

**Tablo 13.** *E.coli* ve *K.pneumoniae* dışı *Enterobacterales*(n=12) izolatlarının oluşturulan zon sınır değerlerine göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki türe özgü kategorik hata sayısı

İnkübasyon Süresi	4.saat				6.saat				8.saat			
	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH
TZP	12/8	-	-	-	12/5	-	1	-	11/5	-	-	-
CTX	12/1	-	-	-	12/3	-	-	-	11/1	-	-	-
CAZ	12/2	-	1	1	12/-	-	1	1	11/1	-	-	1
MEM	12/3	-	2	-	12/1	-	1	-	11/1	-	1	-
CIP	11/1	-	-	-	12/1	-	-	-	11/-	-	1	-
AN	12/1	-	-	-	12/1	-	-	-	11/-	-	-	-
GM	12/-	-	-	-	12/-	-	-	-	11/-	-	-	-
TOB	12/2	-	-	-	12/3	-	-	-	11/-	-	-	-
IMP	12/-	-	-	-	12/-	-	-	-	11/1	-	-	-
SXT	12/-	-	-	-	12/1	-	-	-	11/1	-	-	-
LEV	11/1	-	-	-	11/3	-	-	-	11/3	-	-	-
<b>Toplam</b>	<b>130/19</b>	<b>-</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>131/18</b>	<b>-</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>121/13</b>	<b>-</b>	<b>2</b>	<b>1</b>

TZP: Piperacillin-tazobactam 30-6 µg, CTX: Cefotaxime 5 µg, AN: Amikacin 30 µg, GM: Gentamicin 10 µg, TOB: Tobramycin 10 µg, CAZ: Ceftazidime 10 µg, IMP: Imipenem 10 µg, MEM: Meropenem 10 µg, CIP: Ciprofloxacin 5 µg, LEV: Levofloxacin 5 µg, SXT: Trimethoprim-sulfamethoxazole 1.25-23.75 µg

Fenotipik yöntemlerle ESBL ürettiği saptanan *Enterobacterales* izolatu sayısı 50 (%62,5) iken karbapenemaz üretenlerin sayısı 19 (%23,8) olarak bulunmuştur. EUCAST RAST yöntemi *E. coli* ve *K. pneumoniae*'de ESBL'yi seftaksim ve seftazidim, karbapenemaz üretimin ise meropenem RAST zon sınır değerleri kullanılarak değerlendirmeyi önermektedir. Önerilen bu zon sınır değerleri kullanılarak tarafımızca oluşturulan tabloların (Tablo 4 ve 5) *Enterobacterales* takımında ESBL ve karbapenemaz saptama kapasitesi değerlendirilmiştir. Buna göre, okunabilir zonlarda ESBL ve karbapenemaz üreten tüm izolatlar doğru bir şekilde tespit edilmiştir. Yalnızca bir izolatta (*Enterobacter aerogenes*) 4. Saatte yanlış pozitif ESBL gözlenirken bu hata 6. ve 8. saatlerde düzelmiştir. Karbapenemaz taramasında ise 6. saatte 2 *E.coli*, 1 *K. pneumoniae*, 4 diğer *Enterobacterales* üyesi olmak üzere toplam 7 izolatta yanlış pozitif sonuç elde edilmiş 8. Saatte değerlendirildiğinde 4 izolattaki hata giderilmiştir. Buna göre 8. saatte 1 *E.coli*, 2 diğer *Enterobacterales* üyesi olmak üzere 3 izolatta yanlış pozitif karbapenemaz sonucu alınmıştır.

#### **4.1.2. Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS)**

Gram boyama ve BTT'ler ile KNS olarak tanımlanan 22 izolatın AST ve direnç sonuçları, EUCAST RAST yönergesinde zon sınır değerleri verilen *Staphylococcus aureus* 'a göre belirlendi. Bu sonuçlar standart DD yöntemiyle kıyaslanarak kategorik uyum ve hata oranları belirlendi. Buna göre; İnkübasyonun 4. saatinde okunabilen zonların oranı yalnızca % 9,1 olarak gözlenirken, 6. ve 8. saatlerde sırasıyla % 77,3 ve % 98,9 saptanmıştır. Yorumlanabilenlerin (ATU dışı sonuçlar) oranı ise saatlere göre sırasıyla %87,5, %86,7 ve %94,2 olarak saptanmıştır. ÇBH oranları 4. 6. ve 8. saatlerinde sırasıyla % 0, %1,7 (1), %1,2 (1), BH oranları %0, %1,7 (1), %0 ve KH oranları %0, %0, %1,2(1) saptanmıştır. Testin toplam hata oranları 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %0, %3,4, %2,4 kategorik uyumu (KU) ise % 100, %96,6, %97,6 olarak belirlenmiştir (Tablo 14). İnkübasyonun 6. ve 8. saatinde görülen birer ÇBH'nin nedeni gentamisin kaynaklıydı (Tablo 15).

**Tablo 14.** KNS olarak ön görülen izolatların teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin kategorik hata oranları

Koagülaz negatif stafilokok (n=22)	İnkübasyon Süresi		
	4.saat	6.saat	8.saat
Teorik test sayısı <sup>a</sup>	88	88	88
Tamamlanan test sayısı <sup>b</sup>	88	88	88
Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %) <sup>c</sup>	8 (9,1)	68 (77,3)	87 (98,9)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	1 (12,5)	9 (13,2)	5 (5,7)
S	5 (62,5)	27 (39,7)	50 (57,5)
R	2 (25,0)	32 (47,1)	32 (36,8)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	-	1 (1,7)	1 (1,2)
Büyük Hata (BH)	-	1 (1,7)	-
Küçük Hata (KH)	-	-	1 (1,2)
Toplam Hata	-	2 (3,4)	2 (2,4)

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılmadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

**Tablo 15.** Koagülaz negatif stafilokok (n=22) için *Staphylococcus aureus* zon sınır değerlerine göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki türe özgü kategorik hata sayısı

İnkübasyon Süresi	4.saat				6.saat				8.saat			
	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH
FOX	3/1	-	-	-	19/1	-	-	-	22/-	-	-	-
NOR	2/-	-	-	-	17/-	-	-	-	21/-	-	-	-
GM	2/-	-	-	-	18/2	1	-	-	22/1	1	-	-
CC	1/-	-	-	-	14/6	-	1	-	22/4	-	-	1
<b>Toplam</b>	<b>8/1</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>68/9</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>87/5</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>1</b>

FOX: Cefoxitin 30 µg, NOR: Norfloxacin 10 µg, GM: Gentamicin 10 µg, CC: Clindamycin 2 µg

KNS olarak tanımlanan 22 izolatın standart DD yöntemi ile 14'inde metisilin direnci (MRKNS), 8'inde MLS<sub>B</sub> direnci olduğu ve 15'inde norfloksasin tarama testinin pozitif olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda KNS'lerin metisilin direnci, EUCAST RAST yönteminde *Staphylococcus aureus* için sınır değeri verilen sefoksitin diski kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Buna göre, RAST prosedüründeki sefoksitin diski ile okunabilir zonlar için 14 MRKNS izolatının tamamından tüm inkübasyon zamanlarında doğru şüphelenilmiştir. RAST prosedüründeki D-test

yöntemi ile MLS<sub>B</sub> direnci olan 8 izolat, norfloksasin diski ile tarama sonucu pozitif olan 15 izolat doğru bir şekilde saptanmıştır.

#### **4.2. EUCAST RAST METODOLOJİSİNDE ZON SINIR DEĞERLERİ VERİLEN İZOLATLAR İÇİN GERİYE DÖNÜK OLARAK HESAPLANAN GERÇEK KATEGORİK UYUM VE HATA ORANLARI**

EUCAST RAST metodolojisinin gerçek kategorik hata oranlarını belirlemek için inkübasyonun 16-20. saatleri arasında plaklardan; referans tanımlama yöntemi olarak belirlenen Vitek 2 Compact (BioMérieux) ile bakteri tanımlamaları yapıldıktan sonra izolatların, 4. 6. ve 8. saatlerde ölçülen zon çapları geriye dönük olarak değerlendirildi. Çalışmaya dahil edilen 145 izolatın 34'ü (22'si KNS, 12'si *E. Coli* ve *K. pneumoniae* dışı *Enterobacterales* üyesi) EUCAST RAST yönetiminde sınır değeri bulunmaması nedeniyle dışlanarak 111 izolat üzerinden kategorik hata oranları saptanmıştır. Bu izolatların 51'i *Escherichia coli*, 17'si *Klebsiella pneumoniae*, 13'ü *Acinetobacter baumannii*, 11'i *Enterococcus faecalis*, 10'u *Staphylococcus aureus*, 6'sı *Enterococcus faecium*, 2 'si *Pseudomonas aeruginosa*, 1'i *Streptococcus pneumoniae* idi. Bu izolatlar için referans olarak belirlenen yöntemler kullanılarak elde edilen direnç oranları ve direnç mekanizmaları tabloda gösterilmektedir (Tablo 16).

Yöntemin gerçek kategorik sonuçlarını saptamak için toplam 111 izolat ve 22 antibiyotik değerlendirilerek, 4. saat için 982, 6. ve 8. saat için 998 antibiyotik-bakteri kombinasyonunun kategorik hata oranları araştırıldı. Saatlere göre okunabilir zon oranları artarken, S veya R olarak yorumlanamayan (ATU) oranları giderek azalmıştır. Toplam okunabilir zon oranları inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde sırasıyla %88,4, %98,8, %99,9 idi. Gram pozitif bakterilerin yetersiz üremesine bağlı olarak 4. saatte okunabilme oranları Gram negatif bakterilere göre (*P.aeruginosa* hariç) oldukça düşüktü. ATU oranları saatlere göre sırasıyla %12,3, %8,8, %7,2 idi. RAST prosedüründe (v 2.0), teknik hatalar (disk düşmesi vb.), okunamayan ve yorumlanamayan (ATU) sonuçlar çıkarıldıktan sonra elde edilen bulgular, standart EUCAST DD (v 10.0) yöntemiyle elde edilen bulgularla kıyaslanarak testin toplam hata oranları hesaplanmıştır. Buna göre ÇBH oranları 4. 6. ve 8. saatlerinde sırasıyla

% 0,7(5), %1,3(11), %1,2(11), BH oranları %0,9(7), %0,9(8), %1(9) ve KH oranları %1,1(8), %1(10), %1(9) saptanmıştır. Testin toplam hata oranları 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %2,7 %3,3, %3,2, kategorik uyumu (KU) ise % 97,3, %96,7, %96,8 olarak belirlenmiştir (Tablo 17).

**Tablo 16.** Bakteriye izolatlar, antimikrobiyal direnç oranları ve direnç mekanizmaları

Tür (İzolat sayısı)	Antimikrobiyal etkenler ve disk kapsamı	Dirençli izolatlar		Direnç mekanizması
		n	%	n (%)
<i>Escherichia coli</i> n=51	piperacillin/tazobactam 30/6 µg	11	21,6	Karbapenemaz n=6(11,7), ESBL n=31(60,7)
	cefotaxime 5 µg	29	56,9	
	ceftazidime 10 µg	20	39,2	
	meropenem 10 µg	2	3,9	
	ciprofloxacin 5 µg	29	56,9	
	amikacin 30 µg	4	7,8	
	gentamicin 10 µg	8	15,6	
	tobramycin 10 µg	17	33,3	
	imipenem 10 µg	-	-	
	trimethoprim/sulfamethoxazole 1.25/23.75 µg	27	52,9	
	levofloxacin 5 µg	28	54,9	
	ertapenem 10 µg*	9	17,6	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> n=17	piperacillin/tazobactam 30/6 µg	10	58,8	Karbapenemaz n=11(64,1), ESBL n=14(82,3)
	cefotaxime 5 µg	13	76,5	
	ceftazidime 10 µg	11	64,7	
	meropenem 10 µg	7	41,2	
	ciprofloxacin 5 µg	11	64,7	
	amikacin 30 µg	6	35,3	
	gentamicin 10 µg	6	35,3	
	tobramycin 10 µg	10	58,8	
	imipenem 10 µg	3	17,7	
	trimethoprim/sulfamethoxazole 1.25/23.75 µg	12	70,6	
	levofloxacin 5 µg	11	64,7	
	ertapenem 10 µg*	12	71	
<i>Enterococcus faecalis</i> n=11	ampicilin 2 µg	-	-	
	imipenem 10 µg	-	-	
	gentamicin 30 µg	-	-	
	vancomycin 5 µg	-	-	
	linezolid 10 µg	-	-	
	teicoplanin 30 µg*	-	-	
<i>Enterococcus Faecium</i> n=6	ampicilin 2 µg	6	100,0	VRE n=2(33,3) HLAR n=5(83,3)
	imipenem 10 µg	6	100,0	
	gentamicin 30 µg	5	83,3	
	vancomycin 5 µg	2	33,3	
	linezolid 10 µg	-	-	
	teicoplanin 30 µg*	2	33,3	

**Tablo 16. (devam)** Bakteriyel izolatlar, antimikrobiyal direnç oranları ve direnç mekanizmaları

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> n=2	piperacillin/tazobactam 30/6 µg	1	50,0	MDR n=1(50)
	ceftazidime 10 µg	-	-	
	imipenem 10 µg	-	-	
	meropenem 10 µg	-	-	
	ciprofloxacin 5 µg	1	50,0	
	gentamicin 10 µg	1	50,0	
	tobramycin 10 µg	1	50,0	
	levofloxacin 5 µg	1	50,0	
<i>Staphylococcus aureus</i> n=10	Cefoxitin 30 µg	4	40,0	MRSA n=4(40) MLS <sub>B</sub> n=2(20)
	Norfloxacın 10 µg	2	20,0	
	Gentamicin 10 µg	2	20,0	
	Clindamycin 2 µg	1	10,0	
	Linezolid 10 µg*	-	-	
	Erythromycin 15 µg*	5	50	
<i>Streptococcus pneumoniae</i> n=1	Oxacillin 1 µg	1	10,0	
	Norfloxacın 10 µg	-	-	
	Erythromycin 15 µg*	-	-	
	Clindamycin 2 µg	-	-	
	Trimethoprim-sulfamethoxazole 1.25-23.75 µg	-	-	
<i>Acinetobacter baumannii</i> n=13	Imipenem 10 µg	11	84,6	XDR n=11(84,6)
	Meropenem 10 µg	11	84,6	
	Ciprofloxacin 5 µg	11	84,6	
	Levofloxacin 5 µg	11	84,6	
	Amikacin 30 µg	10	76,9	
	Gentamicin 10 µg	10	76,9	
	Tobramycin 10 µg	10	76,9	
	Trimethoprim-sulfamethoxazole 1.25-23.75 µg	9	69,2	

\*EUCAST RAST prosedüründe sınır değeri olmayan antibiyotikler

ESBL: Extended-spectrum β-lactamase, MDR:Multiple drug resistance(≥3 antibiyotik sınıfına direnç), XDR: Extensive drug resistance (≤2 antibiyotik sınıfına duyarlılık), MLS<sub>B</sub>: Makrolide-linkosamide-streptogramin B, VRE: Vancomycin resistant enterococci, HLAR:High level resistance aminoglycoside

**Tablo 17.** Tüm izolatların teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları

Tüm izolatlar (n=111)	İnkübasyon Süresi		
	4.saat	6.saat	8.saat
Teorik test sayısı <sup>a</sup>	982	998	998
Tamamlanan test sayısı <sup>b</sup>	964	991	991
Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %) <sup>c</sup>	853 (88,4)	979 (98,8)	990 (99,9)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	105 (12,3)	86 (8,8)	71 (7,2)
S	420 (49,2)	513 (52,4)	530 (53,5)
R	328 (38,5)	378 (38,6)	389 (39,3)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	5 (0,7)	11 (1,3)	11 (1,2)
Büyük Hata (BH)	7 (0,9)	8 (0,9)	9 (1)
Küçük Hata (KH)	8 (1,1)	10 (1,0)	9 (1,0)
Toplam Hata	20 (2,7)	29 (3,3)	29 (3,2)

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılmadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

Ayrıca testin kategorik sonuçları, EUCAST RAST yönergesinde bulunan bakteriler için tek tek belirlenmiştir;

#### 4.2.1. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*

İnkübasyonun 4. saatinde *E.coli* ve *K. pneumoniae* diğer izolatlarla göre daha iyi üremiştir ve sırasıyla okunabilme oranları %93 ve %97,3 idi. Bu oran 8. saatte her iki tür için de %100 olarak görülmüştür. *E.coli* için 4. 6. ve 8. saatlerde toplam hata oranları sırasıyla %3,2, %4, %4,3 iken *K. pneumoniae* için sırasıyla %0,6, %2,9, %2,3 olarak gözlenmiştir (Tablo 18 ve 19). *E.coli* izolatları için ÇBH en sık aminoglikozid (amikasin, gentamisin, tobramisin) kaynaklıyken bunların içinde en sık amikasin diskinde ÇBH vardı. KH ise en sık seftazidim diskleri ile ilişkiliydi. BH'ler belirli bir antibiyotik çeşidinde kümelenmemiştir. Aminoglikozidler *E.coli* izolatları içerisinde ÇBH'lerin 4, 6 ve 8 saatlere göre sırasıyla %75, %70, %73'ünden, seftazidim KH'lerin sırasıyla %83,3, %, %85,7, %100'ünden sorumluydu (Tablo 20). *K. pneumoniae* için hatalar belirli bir antibiyotik diskinde yoğunlaşmamıştır (Tablo 21).

Fenotipik yöntemlerle ESBL ürettiği saptanan *E.coli* ve *K. pneumoniae* sayısı 45 (%66,1) iken karbapenemaz üretenlerin sayısı 17 (%25) olarak bulunmuştur (Tablo 16). RAST yönteminin *E. coli* ve *K. pneumoniae*'de ESBL'yi saptama kapasitesi sefotaksim ve seftazidim, karbapenemaz üretiminin saptama kapasitesi ise meropenem RAST zon sınır değerleri kullanılarak değerlendirildi. Bu yöntemle okunabilir zonlarda ESBL ve karbapenemaz üreten tüm izolatlar doğru bir şekilde tespit edilmiştir. Bir izolatta 8. saatte yanlış pozitif ESBL, bir izolatta ise 6. saatte yanlış pozitif karbapenemaz tarama sonucu gözlenmiştir.

**Tablo 18.** *Escherichia coli* izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları

<i>Escherichia coli</i> (n=51)	İnkübasyon Süresi		
	4.saat	6.saat	8.saat
<b>Teorik test sayısı<sup>a</sup></b>	561	561	561
<b>Tamamlanan test sayısı<sup>b</sup></b>	544	555	555
<b>Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %)<sup>c</sup></b>	506 (93,0)	555 (100,0)	555 (100,0)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	62 (12,3)	50 (9,0)	39 (7,0)
S	300 (59,3)	341 (61,4)	348 (62,7)
R	144 (28,5)	164 (29,5)	168 (30,3)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	4 (0,9)	10 (2)	11 (2,1)
Büyük Hata (BH)	4 (0,9)	3 (0,6)	5 (1)
Küçük Hata (KH)	6 (1,4)	7 (1,4)	6 (1,2)
Toplam Hata	14 (3,2)	20 (4)	22 (4,3)

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılamadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

**Tablo 19.** *K. pneumoniae* izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları

<i>K. pneumoniae</i> (n=17)	İnkübasyon Süresi		
	4.saat	6.saat	8.saat
Teorik test sayısı <sup>a</sup>	187	187	187
Tamamlanan test sayısı <sup>b</sup>	186	186	186
Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %) <sup>c</sup>	181 (97,3)	185 (99,5)	186 (100,0)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	17 (9,4)	13 (7,0)	12 (6,5)
S	66 (36,5)	70 (37,8)	70 (37,6)
R	98 (54,1)	102 (55,1)	104 (55,9)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	-	1 (0,6)	-
Büyük Hata (BH)	1 (0,6)	2 (1,2)	2 (1,1)
Küçük Hata (KH)	1 (0,6)	2 (1,2)	2 (1,1)
Toplam Hata	2 (0,6)	5 (2,9)	4 (2,3)

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılmadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

**Tablo 20.** *Escherichia coli*(n=51) izolatlarının türe göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı

İnkübasyon Süresi	4.saat				6.saat				8.saat			
	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH
TZP	43/24	-	-	-	50/18	1	-	-	50/14	1	-	-
CTX	45/2	-	-	-	51/2	-	-	-	51/2	-	-	-
CAZ	45/9	-	-	5	51/7	-	-	6	51/3	-	-	6
MEM	46/3	-	-	1	51/2	-	-	1	51/2	-	1	-
CIP	47/6	-	-	-	51/5	-	-	-	51/4	-	-	-
AN	49/3	2	2	-	51/2	4	-	-	51/2	4	2	-
GM	47/2	-	-	-	51/-	1	-	-	51/1	2	-	-
TOB	47/6	1	-	-	50/8	2	-	-	50/7	2	-	-
IMP	48/3	-	-	-	51/2	-	1	-	51/2	-	-	-
SXT	45/-	-	1	-	49/-	-	1	-	49/-	-	1	-
LEV	44/4	1	1	-	49/4	2	1	-	49/2	2	1	-
Toplam	506/62	4	4	6	555/50	10	3	7	555/39	11	5	6

TZP: Piperacillin-tazobactam 30-6 µg, CTX: Cefotaxime 5 µg, AN: Amikacin 30 µg, GM: Gentamicin 10 µg, TOB: Tobramycin 10 µg, CAZ: Ceftazidime 10 µg, IMP: Imipenem 10 µg, MEM: Meropenem 10 µg, CIP: Ciprofloxacin 5 µg, LEV: Levofloxacin 5 µg, SXT: Trimethoprim-sulfamethoxazole 1.25-23.75 µg

**Tablo 21.** *K. pneumoniae* (n=17) izolatlarının 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı

İnkübasyon Süresi	4.saat				6.saat				8.saat			
	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH
TZP	16/3	-	-	-	17/3	-	-	-	17/3	-	-	-
CTX	16/1	-	-	-	17/1	-	-	-	17/1	-	-	-
CAZ	16/1	-	-	-	16/1	-	-	-	17/-	-	-	-
MEM	17/4	-	-	1	17/3	-	-	2	17/3	-	-	2
CIP	17/2	-	-	-	17/-	-	-	-	17/1	-	-	-
AN	17/1	-	1	-	17/-	1	-	-	17/1	-	-	-
GM	17/-	-	-	-	17/-	-	-	-	17/-	-	-	-
TOB	17/-	-	-	-	17/2	-	-	-	17/2	-	-	-
IMP	16/4	-	-	-	16/2	-	1	-	16/-	-	1	-
SXT	15/-	-	-	-	17/-	-	1	-	17/-	-	1	-
LEV	17/1	-	-	-	17/1	-	-	-	17/1	-	-	-
<b>Toplam</b>	181/17	-	1	1	185/13	1	2	2	186/12	-	2	2

TZP: Piperacillin-tazobactam 30-6 µg, CTX: Cefotaxime 5 µg, AN: Amikacin 30 µg, GM: Gentamicin 10 µg, TOB: Tobramycin 10 µg, CAZ: Ceftazidime 10 µg, IMP: Imipenem 10 µg, MEM: Meropenem 10 µg, CIP: Ciprofloxacin 5 µg, LEV: Levofloxacin 5 µg, SXT: Trimethoprim-sulfamethoxazole 1.25-23.75 µg

#### 4.2.2. *A.baumannii* ve *P.aeruginosa*

Toplam 13 *A.baumannii*, 2 *P.aeruginosa* olmak üzere 15 non-fermenter izolat tanımlanmıştır. *A.baumannii* izolatlarının 11 (%85)'inde yaygın ilaç direnci (XDR), *P.aeruginosa* izolatlarının 1 (%50)'inde çoklu ilaç direnci (MDR) mevcuttu (Tablo 16). *P.aeruginosa* için RAST yönetiminde 4. saat zon sınır değeri verilmediğinden bu saatte değerlendirme yapılmamıştır. RAST ile 6. ve 8. saatlerde *P.aeruginosa* için hata saptanmamıştır (Tablo 22 ve 23). *A.baumannii* için tüm saatlerde birer adet trimethoprim/sulfamethoxazole diski kaynaklı KH gözlenmiştir (Tablo 24 ve 25).

**Tablo 22.** *P.aeruginosa* izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları

<i>P.aeruginosa</i> (n=2)	İnkübasyon Süresi	
	6.saat	8.saat
Teorik test sayısı <sup>a</sup>	16	16
Tamamlanan test sayısı <sup>b</sup>	16	16
Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %) <sup>c</sup>	12 (75,0)	16 (100,0)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>		
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	3 (25,0)	-
S	5 (41,7)	11 (68,8)
R	4 (33,3)	5 (31,3)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>		
Çok Büyük Hata (ÇBH)	-	-
Büyük Hata (BH)	-	-
Küçük Hata (KH)	-	-
Toplam Hata	-	-

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılamadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

**Tablo 23.** *P.aeruginosa* (n=2) izolatlarının türe göre 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı

İnkübasyon Süresi	6.saat				8.saat			
	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH
TZP	-/-	-	-	-	2/-	-	-	-
CAZ	1/1	-	-	-	2/-	-	-	-
IMP	2/-	-	-	-	2/-	-	-	-
MEM	2/-	-	-	-	2/-	-	-	-
CIP	2/1	-	-	-	2/-	-	-	-
GM	1/-	-	-	-	2/-	-	-	-
TOB	2/-	-	-	-	2/-	-	-	-
LEV	2/1	-	-	-	2/-	-	-	-
<b>Toplam</b>	<b>12/3</b>	-	-	-	<b>16/-</b>	-	-	-

TZP: Piperacillin-tazobactam 30-6 µg, GM: Gentamicin 10 µg, TOB: Tobramycin 10 µg, CAZ: Ceftazidime 10 µg, IMP: Imipenem 10 µg, MEM: Meropenem 10 µg, CIP: Ciprofloxacin 5 µg, LEV: Levofloxacin 5 µg

**Tablo 24.** *Acinetobacter baumannii* izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları

<i>Acinetobacter baumannii</i> (n=13)	İnkübasyon Süresi		
	4.saatt	6.saatt	8.saatt
<b>Teorik test sayısı<sup>a</sup></b>	104	104	104
<b>Tamamlanan test sayısı<sup>b</sup></b>	104	104	104
<b>Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %)<sup>c</sup></b>	89 (85,6)	104 (100,0)	104 (100,0)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	5 (5,6)	2 (1,9)	1 (1,0)
S	18 (20,2)	21 (20,2)	21 (20,2)
R	66 (74,2)	81 (77,9)	82 (78,8)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	-	-	-
Büyük Hata (BH)	-	-	-
Küçük Hata (KH)	1 (1,2)	1 (1,0)	1 (1,0)
Toplam Hata	1 (1,2)	1 (1,0)	1 (1,0)

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılamadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

**Tablo 25.** *Acinetobacter baumannii* (n=13) izolatlarının 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı

İnkübasyon Süresi	4.saatt				6.saatt				8.saatt			
	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH
IMP	11/-	-	-	-	13/-	-	-	-	13/-	-	-	-
MEM	11 /-	-	-	-	13/-	-	-	-	13/-	-	-	-
CİPRO	11/-	-	-	-	13/-	-	-	-	13/-	-	-	-
LEV	11/-	-	-	-	13/-	-	-	-	13/-	-	-	-
AN	11/3	-	-	-	13/1	-	-	-	13/1	-	-	-
GM	12/1	-	-	-	13/1	-	-	-	13/-	-	-	-
TOB	11/-	-	-	-	13/-	-	-	-	13/-	-	-	-
SXT	11/1	-	-	1	13/-	-	-	1	13/-	-	-	1
<b>Toplam</b>	<b>89/5</b>	-	-	<b>1</b>	<b>104/2</b>	-	-	<b>1</b>	<b>104/1</b>	-	-	<b>1</b>

AN: Amikacin 30 µg, GM: Gentamicin 10 µg, TOB: Tobramycin 10 µg, IMP: Imipenem 10 µg, MEM: Meropenem 10 µg, CIP: Ciprofloxacin 5 µg ,LEV: Levofloxacin 5 µg, SXT: Trimethoprim-sulfamethoxazole 1.25-23.75 µg

### 4.2.3. *Staphylococcus aureus*

Toplam 10 *S. aureus* izolatu tanımlanmıştır. Bunların 4'ünde MRSA, 2 sinde MLSB direnci olduğu tespit edilmiştir (Tablo 16). RAST prosedüründeki sefoksitin diski ile bu 4 MRSA izolatının hepsinden, D-test ile de MLSB direnci olan 2 izolattan doğru şüphelenilmiştir. Sefoksitin tarama sonucu 1 izolatta inkübasyonun 4. saatinde, 3 izolatta 6. saatte sonuçlanmıştır. D-test sonucu 2 izolatta 8. saatte pozitifleşmiştir. Okunabilen zon oranı 4. saatte yetersiz üremeye bağlı %42,5 idi. Bu oran 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %90 ve %100'e yükselmiştir (Tablo 26). Bu izolat için toplamda bir büyük hata saptanırken bu hatanın klindamisin diskinden kaynaklı olduğu gözlenmiştir. RAST prosedüründeki norfloksasin tarama diskleri %100 doğru sonuç vermiştir (Tablo 27).

**Tablo 26.** *Staphylococcus aureus* izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları

<i>Staphylococcus aureus</i> (n=10)	İnkübasyon Süresi		
	4.saat	6.saat	8.saat
Teorik test sayısı <sup>a</sup>	40	40	40
Tamamlanan test sayısı <sup>b</sup>	40	40	40
Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %) <sup>c</sup>	17 (42,5)	36 (90,0)	40 (100,0)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	2 (11,8)	2 (5,6)	3 (7,5)
S	12 (70,6)	28 (77,8)	28 (70,0)
R	3 (17,6)	6 (16,7)	9 (22,5)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	-	-	-
Büyük Hata (BH)	-	1 (2,9)	-
Küçük Hata (KH)	-	-	-
Toplam Hata	-	1 (2,9)	-

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılamadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

**Tablo 27.** *Staphylococcus aureus* (n=10) izolatlarının türe göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı

İnkübasyon Süresi	4.saat				6.saat				8.saat			
	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH
FOX(tarama)	5/-	-	-	-	9/-	-	-	-	10/-	-	-	-
NOR(tarama)	4/-	-	-	-	9/-	-	-	-	10/-	-	-	-
GM	4/1	-	-	-	9/-	-	-	-	10/1	-	-	-
CC	4/1	-	-	-	9/2	-	1	-	10/2	-	-	-
<b>Toplam</b>	<b>17/2</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>36/2</b>	<b>-</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>40/3</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

FOX: Cefoxitin 30 µg, NOR: Norfloxacin 10 µg, GM: Gentamicin 10 µg, CC: Clindamycin 2 µg

#### 4.2.4. *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*

Toplam 11 *E. faecalis*, 6 *E. faecium* olmak üzere 17 *Enterococcus* izolatu saptanmıştır. Standart DD yönteminde vankomisin (5 µg) ve gentamisin (30 µg) diski kullanılarak *E. faecium* türlerinin 2'sinde VRE (%33,3), 5'inde HLAR (%83,3) tespit edilmiştir (Tablo 16). RAST prosedüründeki gentamisin (30 µg) diski ile HLAR olan 5 izolatin hepsinden, vankomisin diski ile VRE olan 2 izolatin tamamından doğru şüphelenilmiştir. HLAR tarama sonucu 4 izolatta 4. saatte, 1 izolatta 6. saatte elde edilmiştir.

Okunabilen zon oranları yetersiz üremeye bağlı 4. Saatte belirgin olarak düşükken 6 ve 8. saatlerde artmıştır. Yorumlanamayan (ATU) oranlarının her iki türde de tüm saatlerde yüksek seyretmişti (Tablo 28 ve 29). Bunun sebebi *E. faecalis* için EUCAST RAST prosedüründe 4. 6. ve 8. saatlerde ampisilin (2 µg), imipenem (10 µg) disklerinde dirençli (R), vankomisin (5 µg) disklerinde ise duyarlı (S) sınır değerinin olmaması ve bu değerlerin hepsinin ATU teknik belirsizlik alanına giriyor olmasıydı. *E. faecium* için ise vankomisin (5 µg) ve imipenem (10 µg) disklerinde tüm saatlerde duyarlı (S) sınır değerinin olmaması ve bu değerlerin hepsinin ATU teknik belirsizlik alanına giriyor olmasından kaynaklanmaktaydı. Ancak *E. faecium* ATU oranları *E. faecalis*'e göre çok daha azdı. Bunun nedeni ise *E. faecium* izolatlarının çoğunda imipenem ve vankomisin diskleri etrafında zon açmaması nedeniyle bu izolatların ATU alanlarına girmemesiydi. *E. faecalis* için RAST kategorik uyumu %100 bulunmuştur. *E. faecium* da ise tüm saatlerde 2'ser adet vankomisin diski kaynaklı BH tespit edilmiştir (Tablo 30 ve 31).

**Tablo 28.** *Enterococcus faecalis* izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları

<i>Enterococcus faecalis</i> (n=11)	İnkübasyon Süresi		
	4.saatt	6.saatt	8.saatt
<b>Teorik test sayısı<sup>a</sup></b>	55	55	55
<b>Tamamlanan test sayısı<sup>b</sup></b>	55	55	55
<b>Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %)<sup>c</sup></b>	35 (63,6)	55 (96,4)	55 (100,0)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	15 (42,9)	13 (24,5)	13 (23,6)
S	20 (57,1)	40 (75,5)	42 (76,4)
R	-	-	-
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	-	-	-
Büyük Hata (BH)	-	-	-
Küçük Hata (KH)	-	-	-
Toplam Hata	-	-	-

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılamadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

**Tablo 29.** *Enterococcus faecium* izolatlarının teorik ve gerçek test sayıları, okunabilen ve S veya R olarak yorumlanabilen testlerin gerçek kategorik hata oranları

<i>Enterococcus faecium</i> (n=6)	İnkübasyon Süresi		
	4.saatt	6.saatt	8.saatt
<b>Teorik test sayısı<sup>a</sup></b>	30	30	30
<b>Tamamlanan test sayısı<sup>b</sup></b>	30	30	30
<b>Okunabilir bölgeler (Tamamlanan test %)<sup>c</sup></b>	20 (66,7)	27 (90,0)	29 (96,7)
<b>Okunabilir bölgeler üzerinden sonuçlar (%)</b>			
S veya R olarak yorumlanamayanlar (ATU)	2 (10,0)	2 (7,4)	2 (6,9)
S	1 (5,0)	4 (14,8)	6 (20,7)
R	17 (85,0)	21 (77,8)	21 (72,4)
<b>S veya R olarak yorumlanan toplam zon üzerinden Hatalar (%)</b>			
Çok Büyük Hata (ÇBH)	-	-	-
Büyük Hata (BH)	2 (11,1)	2 (8,0)	2 (7,4)
Küçük Hata (KH)	-	-	-
Toplam Hata	2 (11,1)	2 (8,0)	2 (7,4)

Küçük Hata: RAST=S/R Referans yöntem=I

Büyük Hata: RAST=R Referans Yöntem=S

Çok Büyük Hata: RAST=S Referans Yöntem=R

a: Toplam olası izolat/etken kombinasyonu sayısı.

b: Eksik veriler hariç tutulduktan sonra tamamlanan testlerin sayısı (örn. disk düşürüldü, teknik nedenlerle bakılamadı).

c: Okunabilir inhibisyon bölgelerine sahip test sayısı.

**Tablo 30.** *Enterococcus faecalis*(n=11) izolatlarının 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı

İnkübasyon Süresi	4.saat				6.saat				8.saat			
	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH
AM	7/-	-	-	-	11/-	-	-	-	11/-	-	-	-
IPM	9/1	-	-	-	10/-	-	-	-	11/-	-	-	-
GM	4/4	-	-	-	11/2	-	-	-	11/2	-	-	-
VA	9/9	-	-	-	11/11	-	-	-	11/11	-	-	-
LZD	6/1	-	-	-	10/-	-	-	-	11/-	-	-	-
<b>Toplam</b>	<b>35/15</b>	-	-	-	<b>53/13</b>	-	-	-	<b>55/13</b>	-	-	-

AM: Ampicilin 2 µg, IPM: Imipenem 10 µg, VA: Vancomycin 5 µg, LZD: Linezolid 10 µg, GM: Gentamicin 30 µg

**Tablo 31.** *Enterococcus faecium* (n=6) izolatlarının türe göre 4, 6 ve 8. saatlerdeki kategorik hata sayısı

İnkübasyon Süresi	4.saat				6.saat				8.saat			
	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH	Okuma/ATU	ÇBH	BH	KH
AM	5/-	-	-	-	6/-	-	-	-	6/-	-	-	-
IPM	5/-	-	-	-	6/-	-	-	-	6/-	-	-	-
GM	4/-	-	-	-	5/-	-	-	-	5/-	-	-	-
VA	5/2	-	2	-	6/2	-	2	-	6/2	-	2	-
LZD	1/-	-	-	-	4/-	-	-	-	6/-	-	-	-
<b>Toplam</b>	<b>20/2</b>	-	<b>2</b>	-	<b>27/2</b>	-	<b>2</b>	-	<b>29/2</b>	-	<b>2</b>	-

AM: Ampicilin 2 µg, IPM: Imipenem 10 µg, VA: Vancomycin 5 µg, LZD: Linezolid 10 µg, GM: Gentamicin 30 µg

#### 4.2.5. *Streptococcus pneumoniae*

Bir adet *S. pneumoniae* izolatu saptanmıştır. Okunabilme oranı tüm saatlerde %100 görülmüştür. Saatlere göre kategorik uyumu (KU) %100 saptanmıştır. MLSB taraması için D-test yapılmış ve referans yöntemle de uyumlu olarak negatif gözlenmiştir.

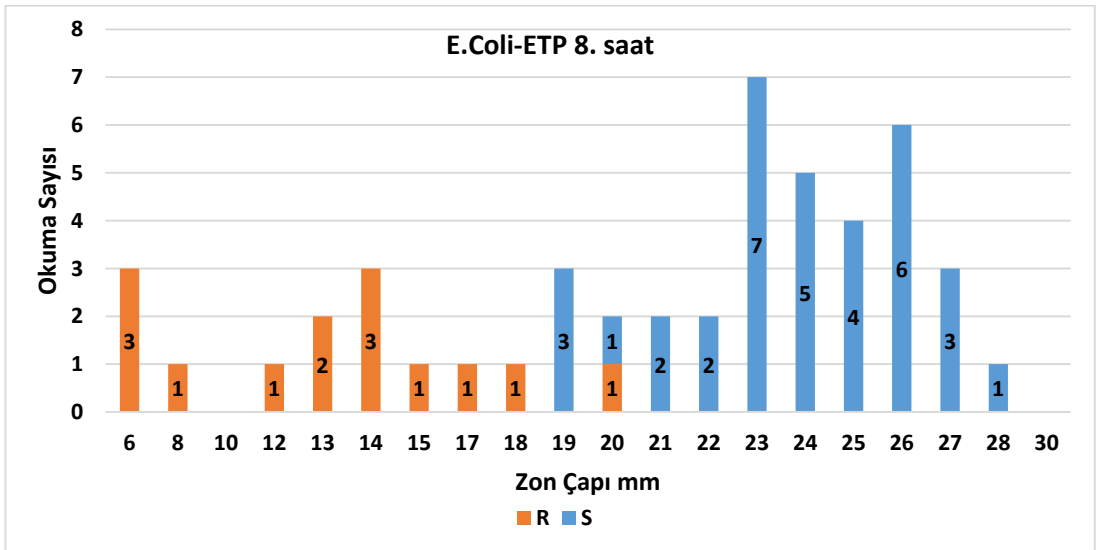
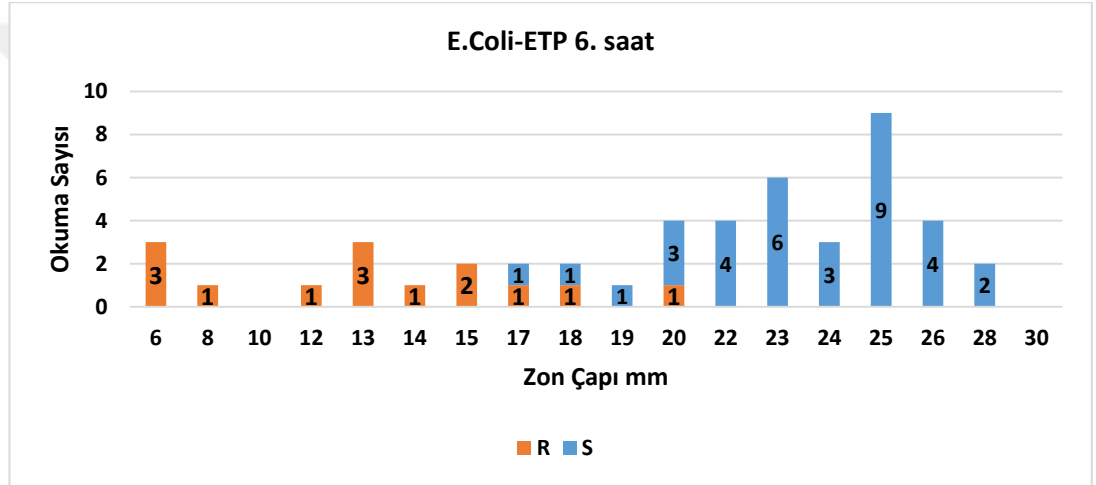
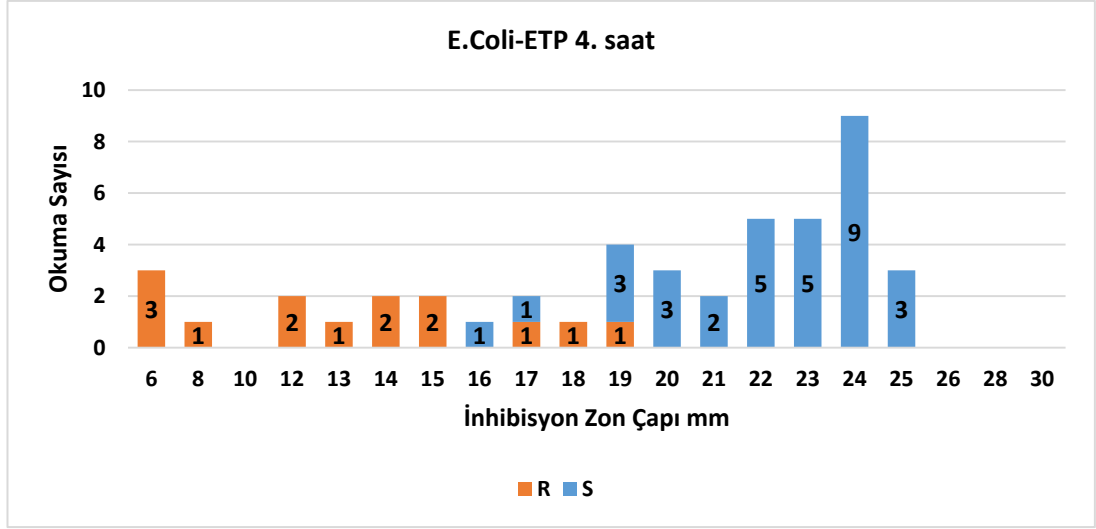
### 4.3. BULGULARIN KLİNİSYENE BİLDİRİLMESİ VE TEDAVİ KARARINA ETKİSİ

Toplam 145 izolat için klinisyene ön sonuç bildirim yapılmıştır. 145 hastanın 5'inde exitus gözlenmesi, 4'ünde başka merkeze nakil, tedavi reddi gibi nedenlerden

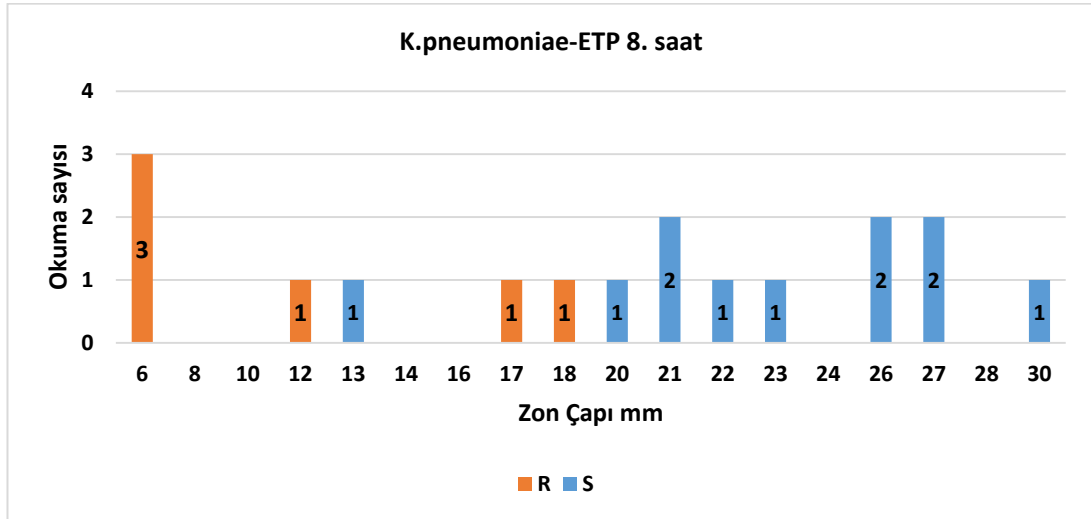
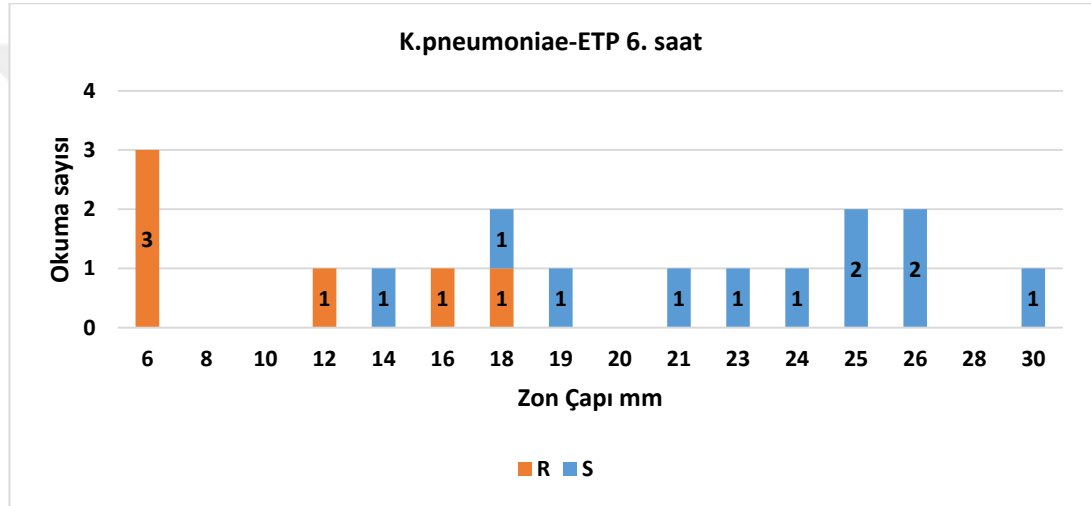
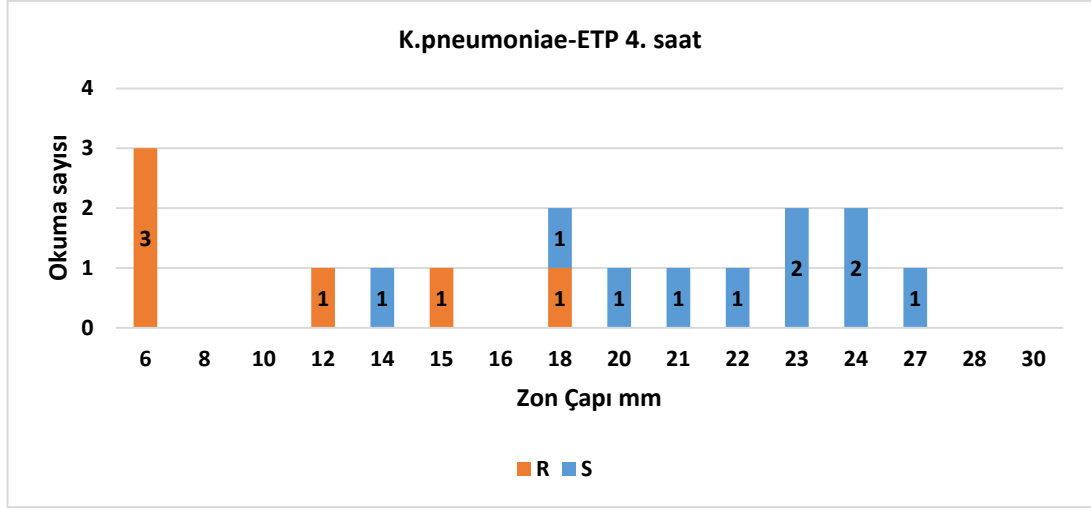
dolayı tedavi değişikliği yapılamadığı gözlenmiştir. Geriye kalan 136 hasta için; RAST bildirim sonrası 47 (%35) hastanın tedavisinde eskalasyon yapılmıştır. Eskalasyon yapılan bu hastaların kan kültürü etkenlerinin 35'inin Gram negatif, 12'sinin Gram pozitif bakteri olduğu saptanmıştır. Eskalasyon yapılması uygun olan 6 hastada ise hastayı takip eden hekim tarafından tedavi değişikliği yapılmaması uygun görülmüştür. Standart yöntemle son ADT sonucu elde edildikten sonra bu erken eskalasyon kararları değerlendirildiğinde, 45 (% 96) hastada yapılan eskalasyonun doğru ve hastanın yararına olduğu gözlenmiştir. İki hasta tedavisinde piperasilin tazobaktam alırken, RAST ile bu antibiyotiğin ADT sonucu ATU alanına girmesi sebebiyle klinisyenin kararıyla eskalasyon yapılarak meropeneme geçilmiş fakat son ADT sonucunda piperasilin tazobaktama duyarlı olduğu gözlenmiştir. Ayrıca 32 (%24) hastada RAST ile efektif de-eskalasyon yapılabilecekken, hekim tarafından tedavide değişim yapılmaması uygun görülmüştür.

#### **4.4. EUCAST RAST YÖNERGESİNDE BULUNMAYAN ORGANİZMA-İZOLAT KOMBİNASYONLARI**

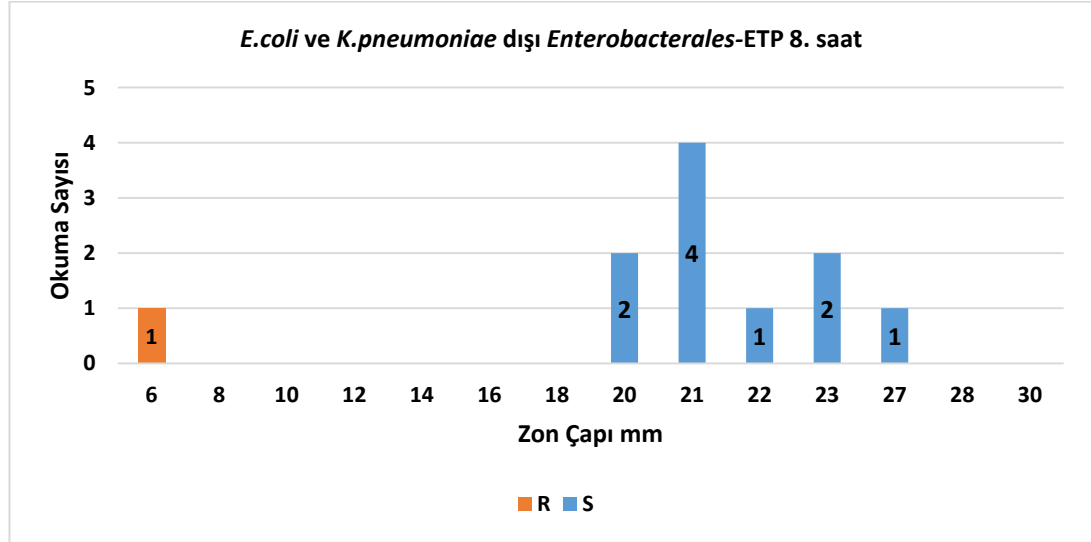
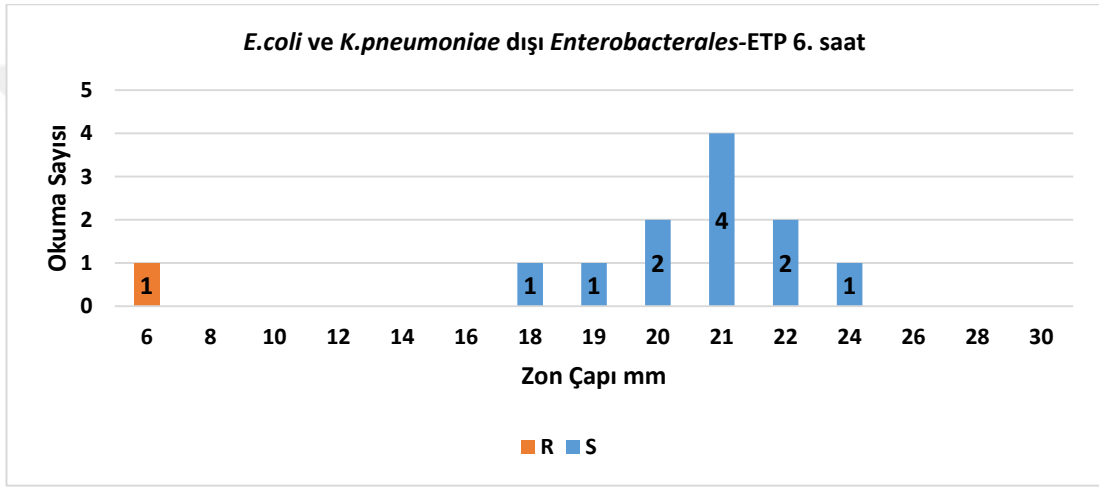
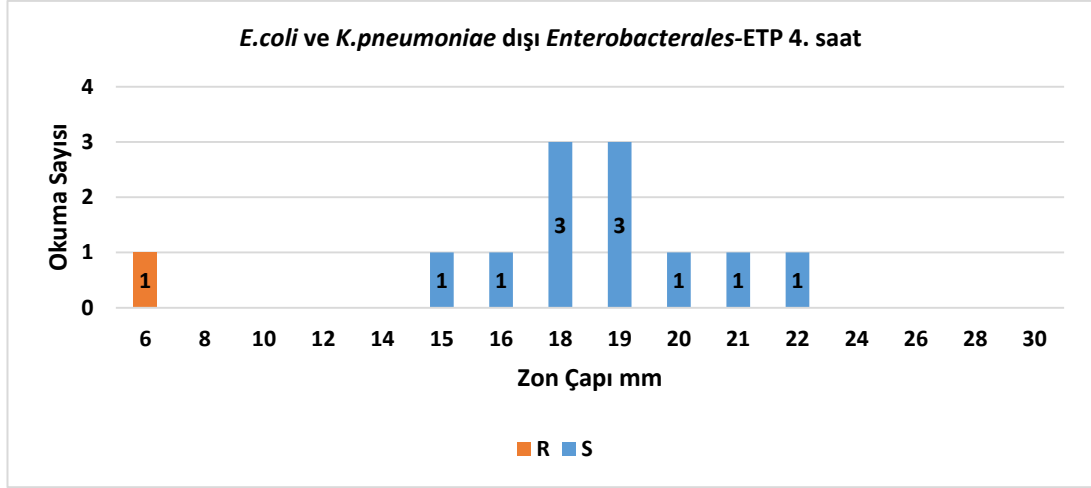
Bütün bunlara ek olarak EUCAST RAST yönergesinde bulunmayan bazı organizma-ajan kombinasyonlarının (*E.coli*-ertapenem, *K.pneumoniae*-ertapenem, diğer *Enterobacteriaceae* izolatları-ertapenem, *S. aureus*-eritromisin, KNS-eritromisin, *S. aureus*-linezolid, KNS-linezolid, *E. faecalis*-teikoplanin, *E. faecium*-teikoplanin) 4. 6. ve 8. saatlerde zon sınır değerleri kayıt altına alınarak literatüre katkı sağlanmak amaçlanmıştır. Bu kombinasyonların RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) duyarlılık kategorizasyonu aşığıda grafiklerle (Şekil 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10.) verilmiştir;



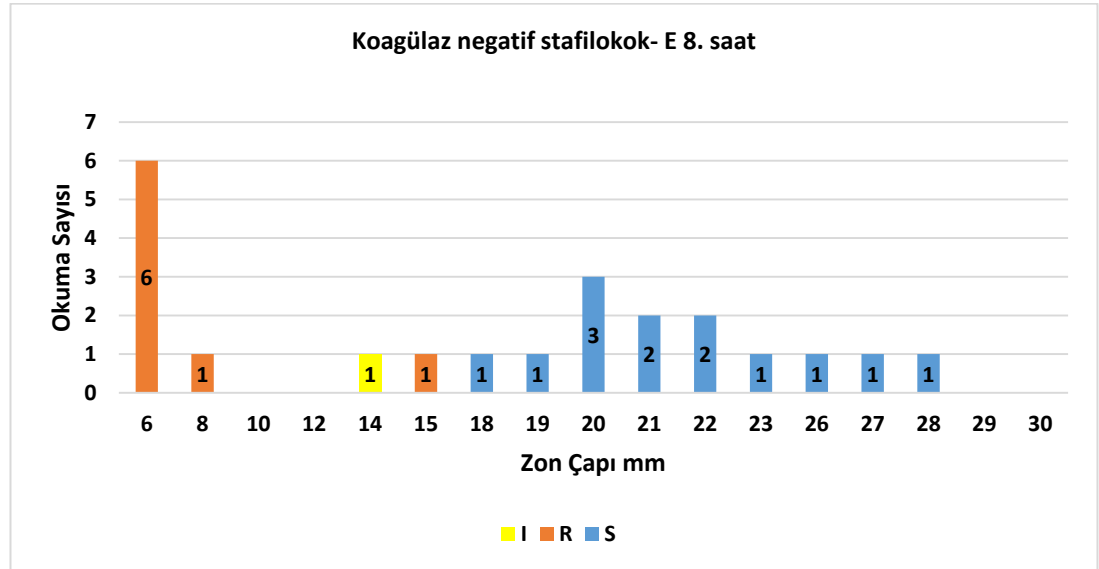
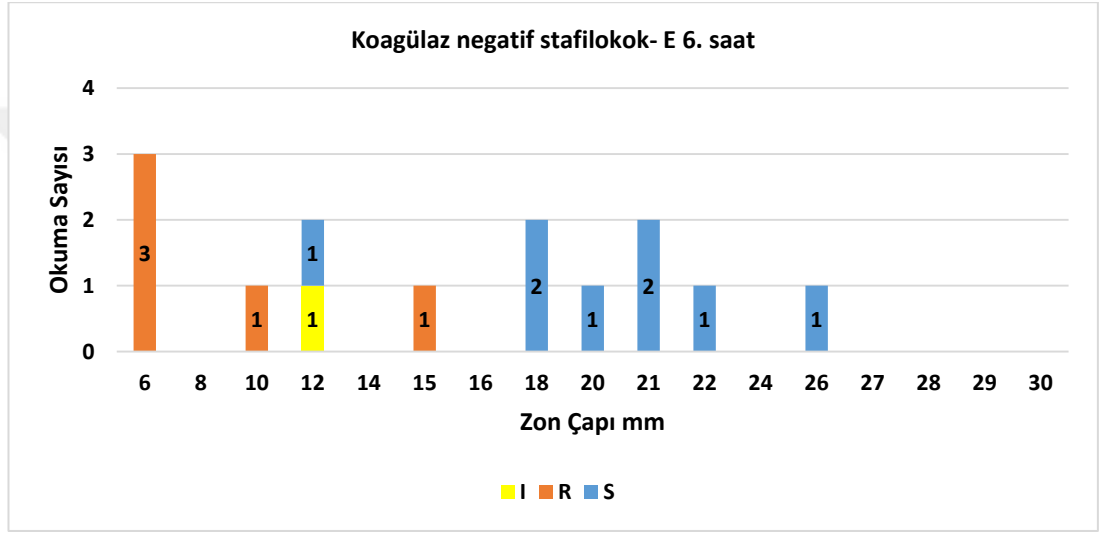
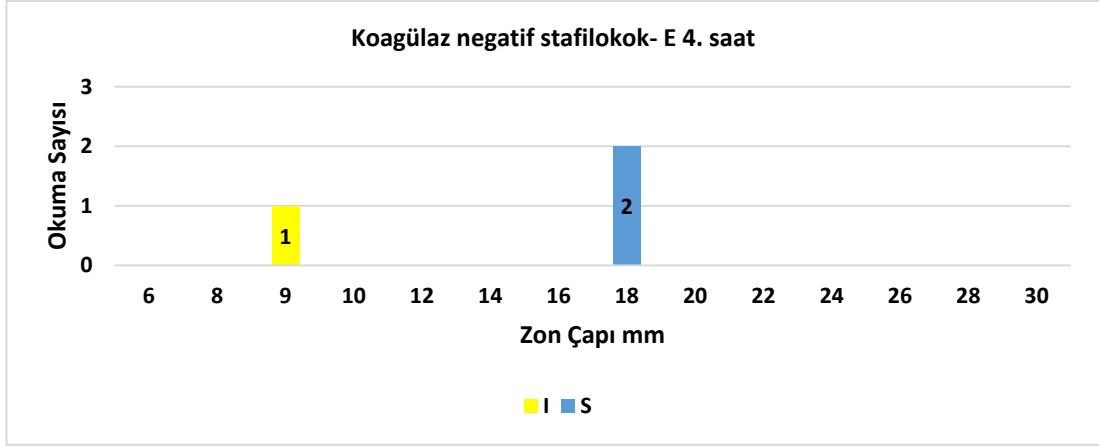
**Şekil 4.** *E.coli*-ertapenem (ETP) 10 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu



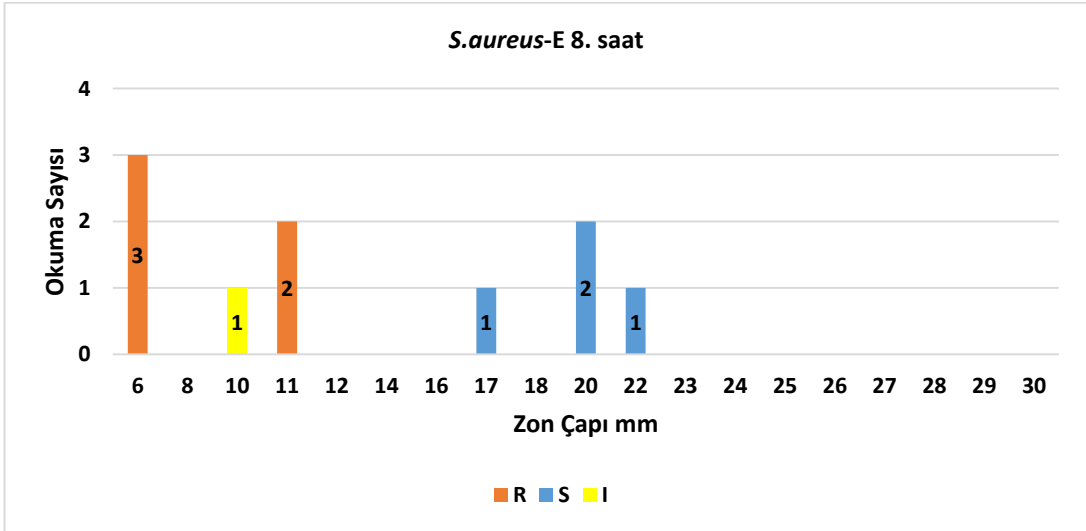
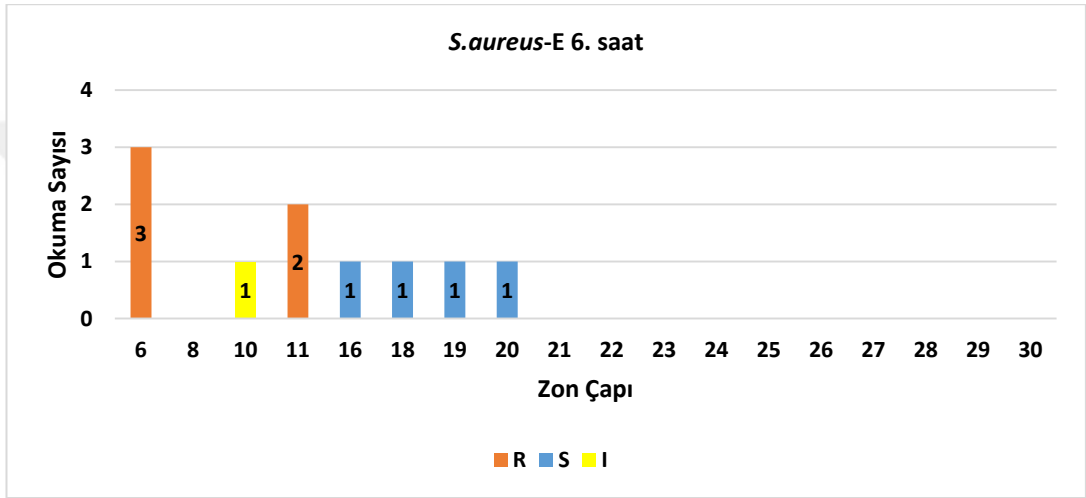
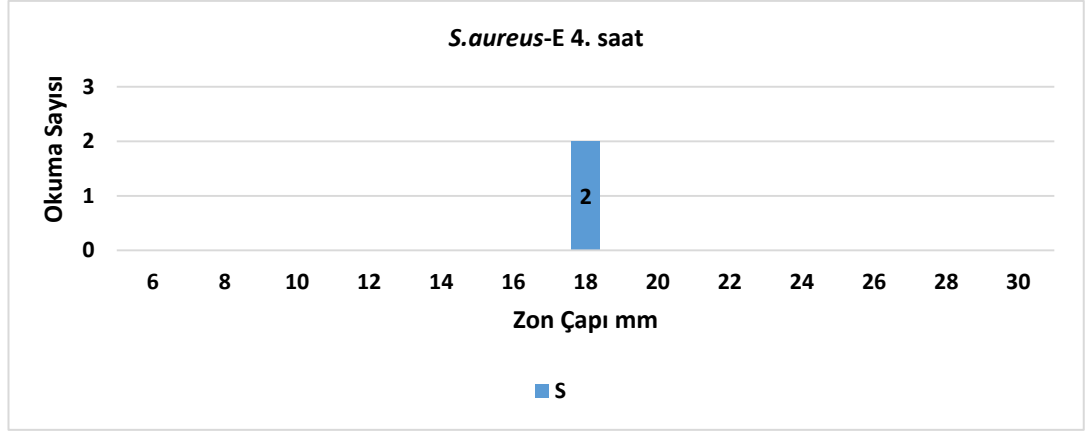
Şekil 5. *K.pneumoniae*-ertapenem (ETP) 10 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu



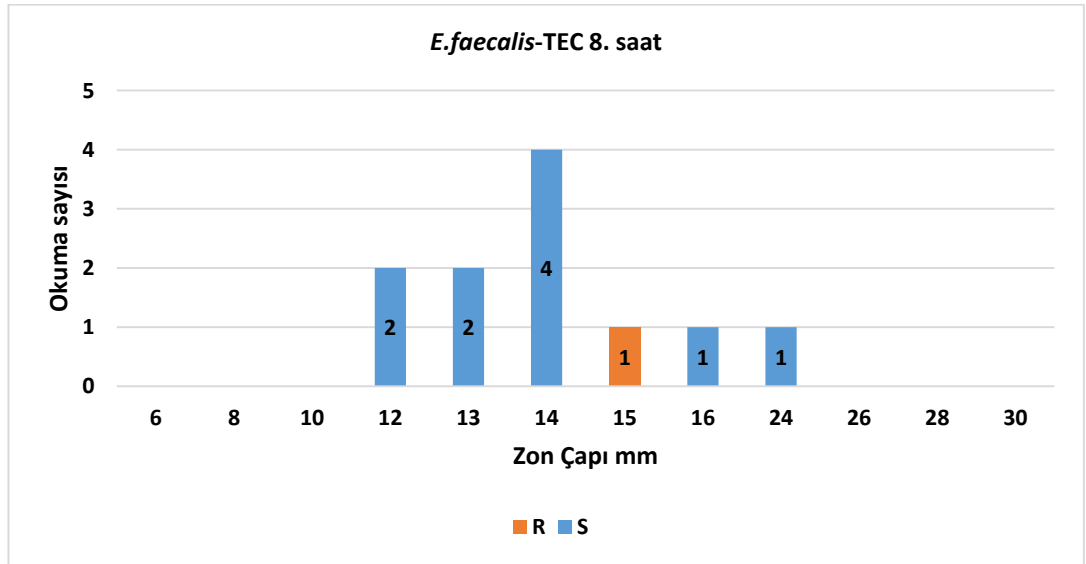
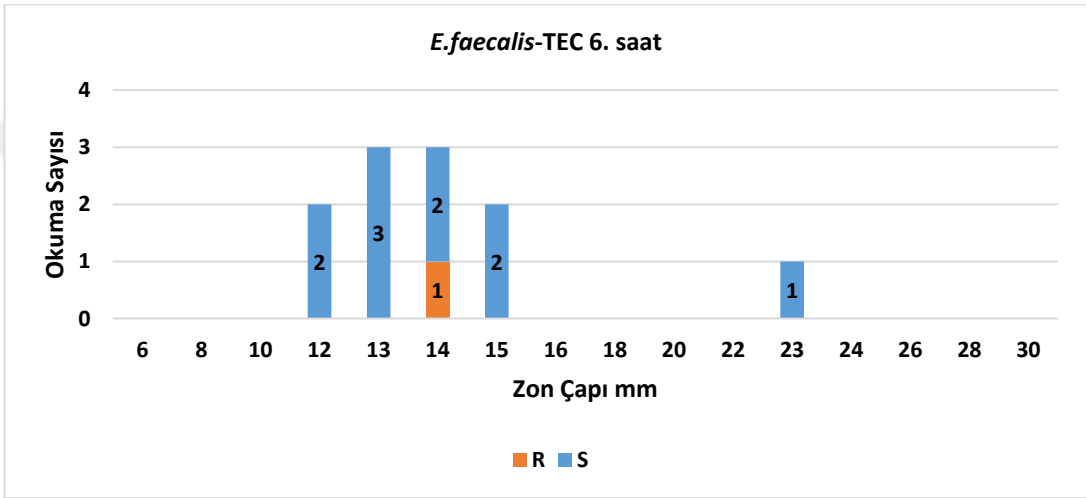
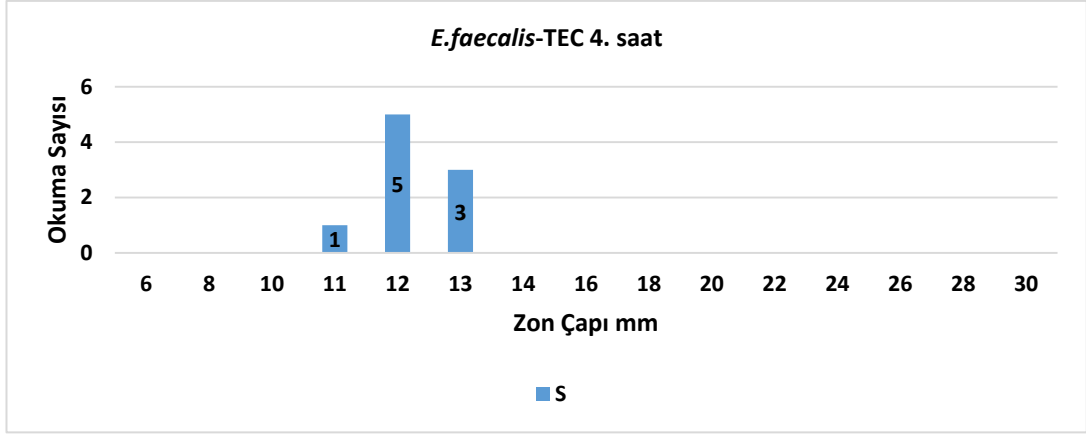
**Şekil 6.** *E.coli* ve *K.pneumoniae* dışı *Enterobacterales* isolatları-ertapenem (ETP) 10 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu



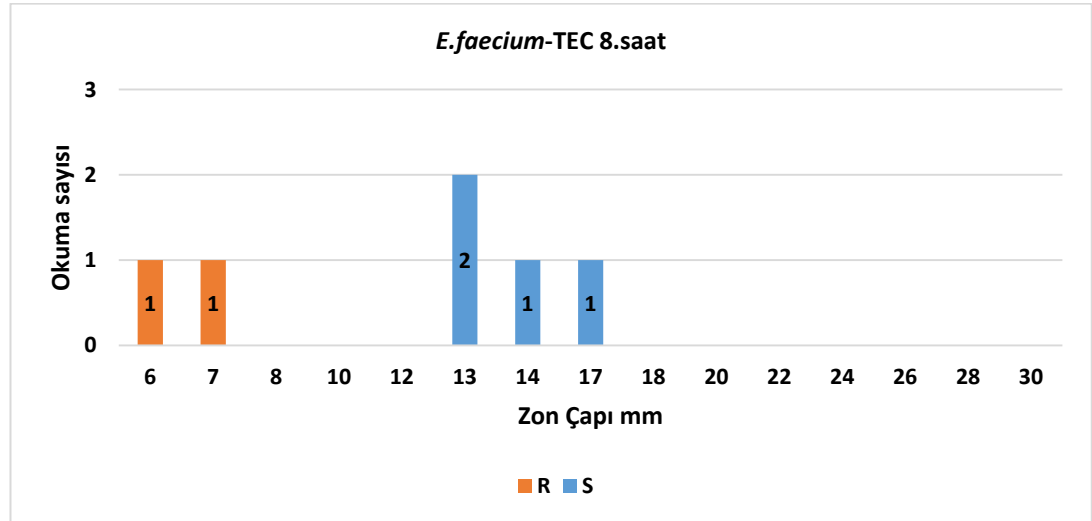
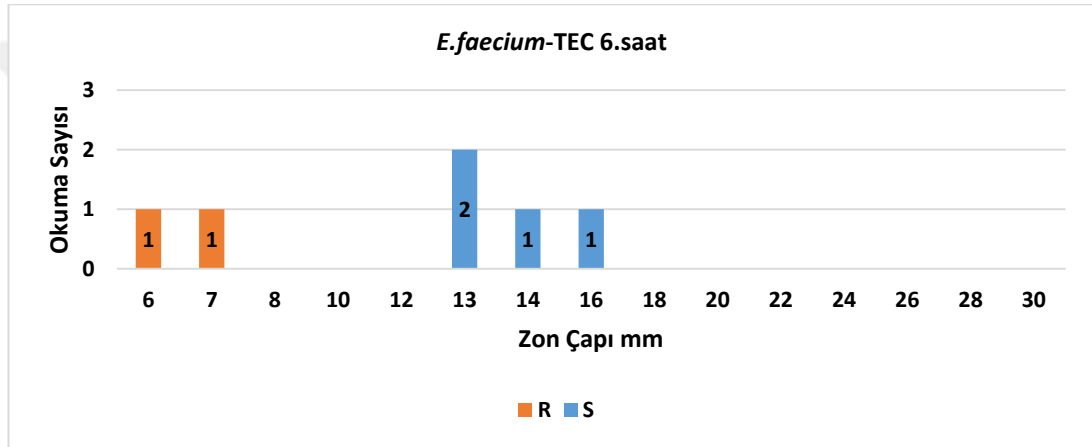
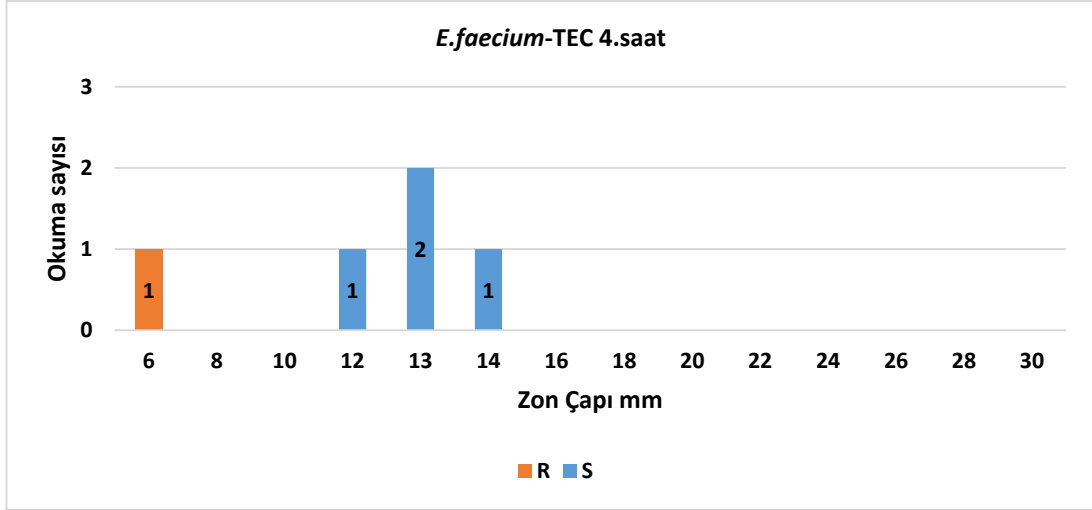
**Şekil 7.** Koagülaz negatif stafilokok-eritromisin (E) 15 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu



**Şekil 8.** *S.aureus*-eritromisin (E) 15 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu



**Şekil 9.** *E.faecalis*-teikoplanin (TEC) 30 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu



**Şekil 10.** *E.faecium*-teikoplanin (TEC) 30 µg kombinasyonlarına göre inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde RAST zon çapı dağılımlarına karşı EUCAST standart disk difüzyon (DD) kategorizasyonu

## 5. TARTIŞMA

Artan antimikrobiyal dirençle birlikte, sepsis ve septik şoktaki hastalara başlanan ampirik antibiyoterapilerin başarısızlık oranları giderek artmaktadır (4, 72). Bu yüzden ampirik tedavileri en kısa sürede değerlendirilip tedavi revizyonu yapılabilmesi için hızlı ADT'lere olan ihtiyaç giderek artmaktadır. Pozitif kan kültürü şişesinden direkt inokulasyon ve inkübasyonun 4-8. saatler arasında zon sınır değerlerinin okunarak ADT sonucunun verilmesi 1980'lerden beri uygulanmakla birlikte testin standardizasyonu yapılmadığı için rutin uygulamaya geçilmemiştir. Yakın zamanda Chandrasekaran ve ark. CLSI'nin RAST için kılavuz oluşturmaya yönelik yayınlanan çalışmasında, testin kategorik uyumu düşük (% 58.9 -% 73.2) saptanmıştır. Ancak bu çalışmada kısaltılmış okuma süresine uygun zon sınır değerleri oluşturmak yerine standart sınır değerleri kullanılmış ve kategorik uyum oranları buna göre hesaplanmıştır (73). EUCAST 2019 yılında RAST için yöntem ve zon sınır değerlerini standardize ederek kendi web sitesinde yayınlamıştır. Ancak EUCAST RAST metodunun bazı kısıtlamaları bulunmaktadır. Belirlenen bazı bakterilerin 4. 6. veya 8. saatlerde yeterli ürememesi nedeniyle zon sınır değerleri okunamaması bu kısıtlamalardan biridir. Başka bir kısıtlama ise yorumlanması uygun olmayan ATU sınır değerlerinin olmasıdır. RAST yönteminde ATU değerleri; EUCAST tarafından ÇBH ve BH oranlarını en aza indirmek için belirlenmiştir. Zon çapı değeri, ATU sınır değerleri içine giriyorsa bakteri duyarlılığı labotaruvarında kullanılan standart yöntemlerle belirlenmelidir.

EUCAST RAST yönteminin standart yöntemlere göre uyumunu araştıran bazı çalışmalar şu şekildedir;

Åkerlund ve arkadaşlarının yaptığı 55 laboratuvarın (40'ı Kuzey Avrupa'da, 15'i Güney Avrupa'da) dahil olduğu çalışmada, okunabilen (% 88,% 96 ve% 99) ve yorumlanabilen (ATU dışı sonuçlar) (% 70,% 81 ve% 85) zon çaplarının sayısı inkübasyon süresiyle (4, 6 ve 8 saat) artmıştır. RAST(v.1.0) sonuçları ve standart disk difüzyon yöntemi (v.8.0) ADT sonuçları karşılaştırılmış, ÇBH oranları 4. 6. ve 8. saatte sırasıyla %0,2, %0,4, %0,5 iken BH oranları %2,1, %1,1, %0,9 olarak bulunmuş. Testin total hata oranı ise 4. 6. ve 8. saatte sırasıyla %3, %2,1, %2,2 olarak

saptanmıştır (66). Jonasson ve ark. yaptıkları çalışmada 5 bakteri türü (*Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumani*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) için çoğu inhibisyon bölgesi 4. saatte okunabilmiştir. Yorumlanabilen sonuçların oranı % 75'ten (4. Saatte), % 84'e (8. Saatte) yükselmiştir. Broth mikrodilüsyon yöntemine göre RAST'ın 4, 6 ve 8 saatte yanlış duyarlılık (ÇBH) oranları sırasıyla % 0,2, % 0,2, % 0,2 ve yanlış direnç (BH) oranları % 1,2, % 0,2 ve % 0,1 olarak saptanmıştır (25). Martins ve ark.'ın 61 *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının dahil edildiği çalışmalarında, ATU belirsizlik oranlarının 4. saatte %13,8'den 6. saatte %6,8'e düştüğü gözlenmiştir. Standart DD yöntemi ile karşılaştırılarak kategorik uyum (KU) ve hata oranları 4. Saat (KU=%84,3, ÇBH=%0,4, BH=%3,2, KH=%13) ve 6. saatlerde (KU=%94,4, ÇBH=%0,4, BH=%0,8, KH=%4,3) saptanmıştır (74). Mancini ve ark. *Enterobacterales* ADT sonuçları için EUCAST RAST zon sınır değerlerine göre otomatize okuma sistemi kullanmıştır. İnkübasyonun 6. ve 8. saatinden sonra, izolatların saate göre sırasıyla % 89,5'i ve % 93'ü yorumlanabilir sonuçlar elde edilirken, 6 ve 8 saatlik inkübasyon sonrası standart DD yöntemine kıyasla sırasıyla ÇBH=%1,2, BH=%0,5, KH=%0,5 ve ÇBH=%1,6, BH=%0,6, KH=%0,8 olarak neredeyse aynı bulunmuştur. Aynı zamanda pozitif sinyal sonrası direkt inokulasyonun 18. Saatinde okunan sonuçların standart EUCAST DD yöntemi zon çapları ile yüksek uyumu nedeniyle RAST doğrulanması için bu yöntemin kullanılmasının iş yükünü ve maliyeti azaltacağı düşünülmüştür (75).

Bizim çalışmamızda ise toplam okunabilir zon oranları inkübasyonun 4. 6. ve 8. saatlerinde sırasıyla %88,4, %98,8, %99,9 iken ATU oranları saatlere göre sırasıyla %12,3, %8,8, %7,2 idi. Literatürle benzer olarak okunabilir zon oranları inkübasyon süreleriyle artmış, ATU oranları ise azalmıştı. Testin gerçek kategorik hata oranları, bakterinin türünün 4. 6. ve 8. saatte tam olarak belirlenememesi nedeniyle referans olarak belirlenen Vitek-2 tanımlaması sonrası geriye dönük olarak hesaplanmıştır. Buna göre ÇBH oranları 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla % 0,7, %1,3, %1,2, BH oranları %0,9, %0,9, %1 ve KH oranları %1,1, %1, %1 saptanmıştır. Testin toplam hata oranları 4. 6. ve 8. saatlerde sırasıyla %2,7 %3,3, %3,2, kategorik uyumu ise % 97,3,

%96,7, %96,8 olarak belirlenmiştir. Bu oransal veriler literatür bulguları ile uyumluydu.

ABD Gıda ve İlaç Dairesi'nin (FDA) ticari bir ADT sisteminin erken okuma sonuçlarını değerlendirmek ve onaylamak için tavsiyesi o sistemin  $KU \geq \% 90$ ,  $\text{ÇBH} \leq \% 1.5$ ,  $BH \leq \% 3.0$  ve  $KH < \% 10$  olmasıdır (76). Cumitech'e göre ise  $KU \geq \% 90$ ,  $\text{ÇBH}$  ve  $BH$  oranı ayrı ayrı  $\leq \% 3$ ,  $BH$  ve  $KH$  oranı için toplam oranının  $\leq \% 7$  olması beklenmektedir (77). Çalışmamızda elde edilen veriler, FDA ve Cumitech'in baz aldığı ADT sisteminin kategorik uyumu ve hata oranları kabul kriterlerini tüm saatlerde tam olarak karşılamaktaydı. Ayrıca RAST uygulamasının ucuz, hassas, özgül, kullanıcı dostu(kısa eğitimlerle rahat anlaşılabilir), hızlı ve sağlam olması, özel ekipman gerektirmemesi, ulaşılabilir olması nedeniyle WHO (ASSURED)test seçimi kriterleri ile uyumlu olduğu gözlenmiştir (78). Bu açıdan EUCAST RAST metodunun çoğu merkezde güvenle kullanılabilceği anlaşılmıştır.

Jasuja ve ark.'ın yaptıkları çalışmada inkübasyonun 6. saatinde bir yazılım cihazı aracılığıyla okunan zonlar, EUCAST RAST sınır değerlerine göre yorumlanmış ve VITEK-2 sonuçları ile kıyaslanmış. 2029 antibiyotik ölçümünde 14  $\text{ÇBH}$ , 28  $BH$ , 12  $KH$  sayıları ile %97 kategorik uyum saptanmıştır. Ancak çalışmalarının en büyük kısıtlaması izolatların içerisinde dirençli mikroorganizma sayısının çok az olmasıydı (79). Bizim çalışmamızda belirlenen dirençli mikroorganizma oranının çok yüksek olması EUCAST RAST metodolojisinin yüksek direnç paternine sahip merkezlerde de rahatlıkla kullanılabilceğini göstermekteydi.

Fröding ve ark. çalışmalarında, *Enterobacteriaceae* için inkübasyonun 6. saatinde ESBL saptamak için sefotaksim kullanımının doğru bir yaklaşım olduğunu saptamışlardır(80). Åkerlund ve ark. yaptıkları çalışmalarına 62'si ESBL üreten, 26'sı karbapenem dirençli *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarını dahil ederek RAST'ın bu direnç mekanizmalarını saptama kapasitesi değerlendirilmiştir. Buna göre ESBL üreten tüm izolatlar, okunabilir sefotaksim ve seftazidim zon sınır değerleri ile doğru tespit edilmiştir. Okunabilir meropenem zon sınır değerleri ile 6. saate karbapenemaz üreten iki izolat tespit edilemezken, 8. saate izolatların tümünde karbapenemaz doğru şekilde tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada 24 MRSA

izolatı dahil edilmiş ve bu direnç RAST ile sefoksitin diski kullanılarak 4. saatte okunabilir zonların tamamında doğru saptanmıştır. İnkübasyonun 6. ve 8. saatlerinde bir izolatta yanlış metisilin duyarlılığı saptanmıştır(66). Bizim çalışmamızda referans olarak belirlenen yöntemlerle ESBL ürettiği saptanan *E.coli* ve *K. pneumoniae* sayısı 44 iken karbapenemaz üretenlerin sayısı 17 olarak bulunmuştur. RAST ile okunabilir zonlarda ESBL ve karbapenemaz üreten tüm izolatlar doğru bir şekilde tespit edilmiştir. Bir izolatta 4. saatte, birinde 8. saatte olmak üzere iki izolatta ESBL, bir izolatta ise 6. saatte karbapenemaz tarama sonucu yanlış pozitif sonuç vermiştir. Ayrıca fenotipik yöntemle MRSA olarak tanımlanan 4 izolatın tamamı, RAST prosedürüyle doğru tespit edilmiştir. Sefoksitin tarama sonucu 1 izolatta inkübasyonun 4. saatinde, 3 izolatta 6. saatte sonuçlanmıştır. Bu sonuçlar, izolatların bazı önemli direnç mekanizmalarının erken tespiti ve buna yönelik erken izolasyon önlemlerinin alınabilmesi açısından önemli olabilir. Aynı zamanda MLSB, HLLAR gibi direnç mekanizmaları da yüksek doğruluk oranlarıyla kısa sürelerde tespit edilmiştir. Bu mekanizmaların erken tespitinin hastaların tedavi revizyonuna katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

EUCAST RAST metodu ile erken ADT sonucu verilebilmesi için bakterinin tür düzeyinde tanımlanması gerekmektedir. Ayrıca tanımlanan bakterinin EUCAST RAST metodolojisinde belirlenen bakteriler olması şartı vardır. Bu metodunun uygulandığı çalışmalarda erken bakteri tanımlanması için genellikle MALDI-TOF MS kullanılmıştır (25, 74, 75, 79, 81). Her ne kadar EUCAST RAST metodolojisi WHO (ASSURED) kriterleriyle uyumlu olsa da MALDI TOF MS gibi pahalı hızlı tanımlama sistemlerinin gerekliliği çoğu merkez için bu yöntemin uygulanabilirliğini zorlaştıracaklarını düşünmekteyiz. Bizim çalışmamızda veriler analiz edilirken hastanemiz şartlarında MALDI-TOF MS cihazının bulunmaması ve bu gibi otomatize sistemlerin mevcut olmadığı merkezlerde de EUCAST RAST yönteminin kullanılabilmesine yol göstermesi açısından Gram boyama ve BTT'ler ile bakteri kimlikleri erken tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu yöntemlerle elde edilen sonuçlar, 16-20 saatlik inkübasyon sonrası Vitek 2 Compact sistemi tanımlama sonuçları ile karşılaştırıldığında izolatların tamamının doğru bir şekilde gruplandırıldığı görülmüştür (*Enterobacterales*, KNS, *Acinetobacter* spp. gibi). *Staphylococcus*

*aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae* bu yöntemlerle tür düzeyinde doğru tanımlanabildiği için EUCAST RAST sınır değeri tabloları kullanılmış ve gerçek RAST kategorik hata oranları ile aynı oranlar elde edilmiştir. Gram boyama ve belirlenen BTT'ler ile *Enterobacterales* takımı, *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp.'ye ait izolatlar tür düzeyinde saptanamamaktadır. Çalışmamızda bu yöntemlerle *Pseudomonas* spp. olarak tanımlanan 2 bakterinin referans yöntemle *Pseudomonas auriginosa*, *Acinetobacter* spp. olarak tanımlanan 13 izolatın ise *Acinetobacter baumannii* olarak saptanması nedeniyle bu izolatlarda da EUCAST RAST sınır değeri tabloları kullanılarak gerçek RAST kategorik hata oranları ile aynı oranlar elde edilmiştir.

Gram boyama ve BTT'ler ile *Enterobacterales* olarak tanımlanan izolatlar tür düzeyinde tanımlanamadığı için tarafımızca oluşturulan standardize olmayan zon sınır değerleri sayesinde belirlenen ADT'ler, standart DD yöntemi sonuçları ile karşılaştırılarak kategorik hata oranları belirlenmiştir. Buna göre 4. 6. ve 8. saatlerde ÇBH hata oranları sırasıyla %0,6, %1,4, %1,3, BH %1,1, %0,8,%0,9, KH%1,5, %1,3, %1,1 olarak saptamış, KU ise % 96,8, %96,6, %96,7 olarak belirlenmiştir. KNS'lerin ise EUCAST RAST metodolojisinde zon sınır değerleri olmaması nedeniyle *Staphylococcus aureus* RAST zon sınır değerleri tablosu kullanılarak kategorik hata oranları belirlenmiştir. Buna göre ÇBH oranları 4. 6. ve 8. saatlerinde sırasıyla % 0, %1,7, %1,2, BH oranları %0, %1,7, %0 ve KH oranları %0, %0, %1,2 saptanmıştır. Kategorik uyumu (KU) ise % 100, %96,6, %97,6 olarak belirlenmiştir. Bu kategorik uyum ve hata oranları, FDA ve Cumitech'in ADT kabul kriterlerini tüm saatlerde tam olarak karşılamaktaydı (76, 77). Bu bulgular göz önüne alındığında EUCAST RAST metodolojisinin pahalı otomatize tanımlama sistemleri olmadan dahi kabul edilebilir hata oranlarıyla uygulanabileceğini gösterilmiştir. Ancak KNS ve *Enterobacterales* için standardize zon sınır değerlerinin belirlenmesi bu yöntemi daha da güvenilir kılacaktır. Zaten standart EUCAST DD metodolojisinde *Enterobacterales* takımı için genel zon sınır değerleri bulunmaktadır. EUCAST, RAST için de bu izolatların standart zon sınır değerlerini yayınlayana kadar bu yöntemin hızlı tanımlama sistemi olmayan laboratuvarlarda kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Ancak bu yöntemle elde edilen sonuçlar klinisyene bildirilirken yöntemin ve zon sınır değerlerinin standardize

olmadığı ve de-eskalasyon yapmanın hastanın zararına olabileceği konusunda bilgi verilmelidir.

Pilmis ve ark.'ın yaptıkları prospektif bir çalışmada 167 bakteriyemik hastaya yapılan hızlı ADT ile antibiyotik tedavilerinin % 44'ünün efektif olarak değiştirildiği göstermiştir. Bu hastaların %26'sına de-eskalasyon, %18'sine eskalasyon yapılmıştır. Ayrıca ESBL erken tespiti ile hastaların %9'una erken temas önlemleri uygulanmıştır. Ancak bu çalışmada EUCAST ile uyumlu olmayan bir prosedür kullanılmıştır (82). Çalışmamızda elde edilen erken tanımlama ve ADT sonuçları klinisyene bildirilmiş ve uygun antibiyoterapi almayan 45 (%33) hastanın tedavisinde efektif eskalasyon yapılarak çok kısa sürelerde uygun tedavilere geçildiği gözlenmiştir. Bu veriler sepsis ve septik şokta etkin tedavideki bir saat gecikmenin bile hasta mortalitesini artırdığı göz önünde bulundurulduğunda (2-4) bu yöntemin mortalite oranları düşürmede ne kadar etkili olabileceğini göstermektedir. Hızlı tür tanımlaması ve ADT sonuçlarının, hastanede kalış süresinin azalması, YBÜ'de kalış süresi ve 30 günlük mortalite oranlarının azalması üzerine etkisi daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (83-87). RAST'ın hastalar üzerindeki klinik etkisini değerlendirmek, bu çalışmanın kapsamı dışındaydı. Ancak tarafımızca yakın gelecekte böyle bir çalışma yapılması planlanmaktadır.

EUCAST RAST metodolojisinin bir sınırlaması da bütün bakteri ve antibiyotikler için zon sınır değerlerinin belirlenmemesidir. Bunun için birçok laboratuvarın dahil edildiği kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamızda EUCAST RAST yönergesinde bulunmayan bazı organizma-ajan kombinasyonları 4. 6. ve 8. saatlerde değerlendirilmiş ve zon sınır değerleri kayıt altına alınarak literatüre katkı sağlanmak amaçlanmıştır. Bu verilerin EUCAST tarafından standardize RAST zon çapı sınır değerleri oluşturulurken faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

### **5.1. Kısıtlamalar**

Çalışmamızda pozitif sinyal alınan kan kültürü örneklerinden ADT çalışmak için RAST yöntemi ve standart DD yöntemi kullanılmış ve bu iki yöntemle elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Standart DD yöntemi yerine referans yöntem olan broth

mikrodilüsyon yapılarak daha doğru kategorik hata sonuçları elde edilebilirdi fakat bu yöntem günlük laboratuvar işleyişinde uygulanabilir olmaması nedeniyle yapılamadı.

Gram boyama ve BTT'ler ile *Enterobacterales* olarak tanımlanan izolatlar tür düzeyinde tanımlanamamış ve bu yüzden bu izolatlar için EUCAST RAST *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* ADT ve direnç sınır tablolarına göre zon sınır değerleri belirlenmiştir. Oluşturulan bu değerlerin standardize olmaması çalışmanın en büyük kısıtlamasıydı. Ancak belirlenen saatlerde izolatların tür düzeyinde tanımlanma imkanının olmaması nedeniyle bu yöntemle başvurulmuştur.

KNS için de *Staphylococcus aureus* RAST zon sınır değerleri kullanılmıştır. Bunun nedeni ise KNS için EUCAST RAST metodolojisinde zon sınır değerleri olmamasıydı. Her ne kadar kategorik hata oranları kabul edilebilir olsa da kullanılan sınır değerleri KNS için standardize olmadığından çalışmada kısıtlılık yaratmaktaydı.

EUCAST RAST yönergesinde bulunmayan bazı organizma-ajan kombinasyonlarının zon çapları ölçülerek literatüre katkı sağlanmak istenmiştir. Ancak çalışmamız tek merkezli bir çalışma olması, dahil edilen izolat sayısının az olması nedeniyle bu katkı kısıtlı olmuştur. Bunun için daha fazla organizma-ajan kombinasyonlarının test edildiği çok merkezli ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇ

RAST yöntemi, pozitif kan kültürü şişelerinden doğrudan ADT için standart bir yöntem sunmak üzere EUCAST tarafından geliştirilmiştir. Yöntem disk difüzyon temelli olduğu için tüm klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rahatlıkla uygulanabilir. Bu çalışmadaki veriler, EUCAST tarafından önerilen RAST sınır değerleri kullanılarak yapılan erken okumaların kan kültürlerinin antimikrobiyal duyarlılığının sonuçlarını tahmin etmek için mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılabilmesini göstermektedir. Ancak laboratuvarların iş akışı, çalışma saatleri, personel yeterliliği dikkate alınması gereken önemli konulardır. Bu yöntem kabul edilen diğer mevcut yöntemlerden daha hızlı ve ucuzdur. Yöntemin uygulanışı, en önemli türler ve ajanlar için zon sınır değerleri EUCAST web sitesinde mevcuttur.

Her ne kadar EUCAST RAST yöntemi ucuz ve kolay uygulanabilir olsa da bakterinin erken tanımlanması için otomatize sistemlerin gerekmesi, olanakları kısıtlı laboratuvarların bu yöntemi kullanmasını zorlaştırmaktadır. Çalışmamızda BTT ile bakteri türleri erken tanımlanmaya çalışılmıştır. EUCAST RAST metodolojisinde yer almayan bakteri türleri de (Enterobacterales ve KNS gibi) öngörülerek tespit edilmiş, yorumlama getirilerek zon sınır değerleri oluşturulmuş ve bu değerlere göre tahmini ADT sonuçları verilmiştir. Bu verilerin hata oranları kabul edilebilir düzeyde bulunmuştur. Ayrıca bu standardize olmayan yöntem kullanılarak hastaların %32'sinde efektif eskalasyon yapılmıştır. Bu bulgular, MALDI-TOF MS gibi hızlı tanımlama sistemi olmayan merkezlerde dahi bu yöntemin klinik olarak kullanılabilmesinin yolunun açılabilmesini düşündürmektedir. Ancak RAST zon sınır değerleri olmayan bakteriler için de standart sınır değerlerinin belirlenmesi çok önemlidir. Standart zon sınır değerleri, bu konu hakkında çok sayıda çalışmanın yapılması ve EUCAST'e yeterli miktarda veri gönderilmesi ile sağlıklı bir şekilde belirlenebilir. Bu çalışmaya EUCAST RAST metodolojisinde yer almayan bakteriler ve antibiyotikler de dahil edilerek bu verilerin literatüre katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

Sonuç olarak; ADT'ye kadar geçen sürenin RAST ile önemli ölçüde azaltılabileceği ve sonuçların 4-8 saat içinde elde edilebileceği aşikardır. Bu şartlar

altında ADT sonucu ve tedavi revizyonu için standart sürelerin beklenmesi sepsis, septik şok gibi mortalitesi yüksek hastalıkların yönetimini zorlaştıracaktır. Bu yüzden mikrobiyoloji laboratuvarları iş akışını, personel sayılarını, çalışma saatlerini bu yöntemin uygulanabilmesi için revize etmelidirler. Aynı zamanda RAST sonucunun hastaların tedavilerinde sorumlu kişilere hızlı bir şekilde iletildiği sistemler geliştirmelidirler. Eğer bu başarılabilirse hastalara tedavi revizyonu daha kısa sürede yapılabilir ve bu sayede hasta morbidite ve mortalite oranlarında, hastane kalış sürelerinde net bir azalma görülecektir. Ayrıca erken efektif tedavi sayesinde, dirençli suşların ortaya çıkması ve bulaşması azalacak, sağlık hizmeti maliyetlerinde düşüş gözlenecektir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Genç Bahçe Y, Toyran A, Aksoy A. [Direct identification and determination of antimicrobial susceptibility of gram negative bacilli using the Phoenix™ FX system in blood cultures flagging positive]. Mikrobiyoloji bulteni. 2019;53(2):119-33.
2. Angus DC. The lingering consequences of sepsis: a hidden public health disaster? *Jama*. 2010;304(16):1833-4.
3. Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S, et al. Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive care medicine*. 2007;33(4):606-18.
4. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Critical care medicine*. 2006;34(6):1589-96.
5. Bryan CS. Clinical implications of positive blood cultures. *Clinical microbiology reviews*. 1989;2(4):329-53.
6. Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, LaPlante KL. The Effect of Molecular Rapid Diagnostic Testing on Clinical Outcomes in Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2017;64(1):15-23.
7. Stokkou S, Geginat G, Schlüter D, Tammer I. Direct disk diffusion test using European Clinical Antimicrobial Susceptibility Testing breakpoints provides reliable results compared with the standard method. *European journal of microbiology & immunology*. 2015;5(1):103-11.
8. National Inpatient Hospital Costs(H-CUP): The Most Expensive Conditions by Payer 2013 [cited 2021 April 17 ]. Available from: <https://www.hcup-us.ahrq.gov/reports.jsp>.
9. 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.
10. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2016;193(3):259-72.
11. Klompas M, Osborn TM, Rhee C. Who Owns Sepsis? *Annals of internal medicine*. 2020;172(3):210-1.
12. Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M, Ozenci V. Clinical evaluation of the FilmArray blood culture identification panel in identification of bacteria and yeasts from positive blood culture bottles. *Journal of clinical microbiology*. 2013;51(12):4130-6.
13. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. 1992;101(6):1644-55.
14. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Critical care medicine*. 2003;31(4):1250-6.
15. Kaukonen KM, Bailey M, Pilcher D, Cooper DJ, Bellomo R. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. *The New England journal of medicine*. 2015;372(17):1629-38.
16. Walkey AJ, Lagu T, Lindenauer PK. Trends in sepsis and infection sources in the United States. A population-based study. *Annals of the American Thoracic Society*. 2015;12(2):216-20.
17. 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 (London, England)*. 2018;22(1):93.
18. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence*. 2014;5(1):4-11.
19. Kübler A, Adamik B, Durek G, Mayzner-Zawadzka E, Gaszyński W, Karpel E, et al. Results of the severe sepsis registry in intensive care units in Poland from 2003-2009. *Anaesthesiology intensive therapy*. 2015;47(1):7-13.
20. Vincent J-L, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Jama*. 2009;302(21):2323-9.

21. O'Brien Jr JM, Ali NA, Aberegg SK, Abraham E. Sepsis. *The American journal of medicine.* 2007;120(12):1012-22.
22. Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberi(KLİMUD). ANKARA2017.
23. Bekeris LG, Tworek JA, Walsh MK, Valenstein PN. Trends in blood culture contamination: a College of American Pathologists Q-Tracks study of 356 institutions. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 2005;129(10):1222-5.
24. Nolte FS, Williams JM, Jerris RC, Morello JA, Leitch CD, Matushek S, et al. Multicenter clinical evaluation of a continuous monitoring blood culture system using fluorescent-sensor technology (BACTEC 9240). *Journal of clinical microbiology.* 1993;31(3):552-7.
25. Jonasson E, Matuschek E, Kahlmeter G. The EUCAST rapid disc diffusion method for antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood culture bottles. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2020;75(4):968-78.
26. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. 2014;Cilt-2.
27. Murray Patric R. RKS, Pfaller Michael A. *Tıbbi Mikrobiyoloji.* 7 ed: Pelikan Yayıncılık; 2015. 161-3 p.
28. Garcia LS. *Clinical Microbiology Procedures Handbook* 4ed. Church DL, editor2016. 3.17-3.8.1 p.
29. Procop GWea. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* Seventh ed. Philadelphia:Wolters Kluwer2017.
30. Funke G, Monnet D, deBernardis C, von Graevenitz A, Frenay J. Evaluation of the VITEK 2 system for rapid identification of medically relevant gram-negative rods. *Journal of clinical microbiology.* 1998;36(7):1948-52.
31. Ling TK, Liu Z, Cheng AF. Evaluation of the VITEK 2 system for rapid direct identification and susceptibility testing of gram-negative bacilli from positive blood cultures. *Journal of clinical microbiology.* 2003;41(10):4705-7.
32. O'Hara CM, Miller JM. Evaluation of the Vitek 2 ID-GNB assay for identification of members of the family Enterobacteriaceae and other nonenteric gram-negative bacilli and comparison with the Vitek GNI+ card. *Journal of clinical microbiology.* 2003;41(5):2096-101.
33. Gavin P, Warren J, Obias A, Collins S, Peterson L. Evaluation of the Vitek 2 system for rapid identification of clinical isolates of gram-negative bacilli and members of the family Streptococcaceae. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2002;21(12):869-74.
34. Funke G, Funke-Kissling P. Evaluation of the new VITEK 2 card for identification of clinically relevant gram-negative rods. *Journal of clinical microbiology.* 2004;42(9):4067-71.
35. Funke G, Funke-Kissling P. Performance of the new VITEK 2 GP card for identification of medically relevant gram-positive cocci in a routine clinical laboratory. *Journal of clinical microbiology.* 2005;43(1):84-8.
36. Mitchell SL, Alby K. Performance of microbial identification by MALDI-TOF MS and susceptibility testing by VITEK 2 from positive blood cultures after minimal incubation on solid media. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2017;36(11):2201-6.
37. van den Bijllaardt W, Buiting AG, Mouton JW, Muller AE. Shortening the incubation time for antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion for Enterobacteriaceae: how short can it be and are the results accurate? *International journal of antimicrobial agents.* 2017;49(5):631-7.
38. Matuschek E, Brown DF, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical microbiology and infection* : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2014;20(4):O255-66.
39. Kahlmeter G, Brown DF, Goldstein FW, MacGowan AP, Mouton JW, Osterlund A, et al. European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria. *The Journal of antimicrobial chemotherapy.* 2003;52(2):145-8.
40. Ericsson HM, Sherris JC. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta pathologica et microbiologica Scandinavica Section B: Microbiology and immunology.* 1971;217:Suppl 217:1+.
41. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *EUCAST Disk Diffusion Test Manual.* v 10.0 2020 [cited 2021 April 17]. Available from: <https://www.eucast.org>.

42. U. D. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri(KLİMİK) 2012. Available from: <https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf>.
43. Huh HJ, Song DJ, Shim HJ, Kwon WK, Park MS, Ryu MR, et al. Performance evaluation of the QMAC-dRAST for staphylococci and enterococci isolated from blood culture: a comparative study of performance with the VITEK-2 system. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2018;73(5):1267-71.
44. Kuper KM, Boles DM, Mohr JF, Wanger A. Antimicrobial susceptibility testing: a primer for clinicians. *Pharmacotherapy*. 2009;29(11):1326-43.
45. Ulger Toprak N, Alida CMV, Urban E, Wybo I, Justesen US, Jean-Pierre H, et al. Performance of mass spectrometric identification of clinical *Prevotella* species using the VITEK MS system: A prospective multi-center study. *Anaerobe*. 2018;54:205-9.
46. Hombach M, Zbinden R, Böttger EC. Standardisation of disk diffusion results for antibiotic susceptibility testing using the sirsca automated zone reader. *BMC microbiology*. 2013;13:225.
47. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility (EUCAST) guideline on detection of resistance mechanisms v 2.0 (2017-07-11) 2017. Available from: [https://www.eucast.org/resistance\\_mechanisms/](https://www.eucast.org/resistance_mechanisms/).
48. Rodríguez-Bano J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, et al. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *Journal of clinical microbiology*. 2004;42(3):1089-94.
49. Drioux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. Phenotypic detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clinical Microbiology and Infection*. 2008;14:90-103.
50. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clinical microbiology reviews*. 2005;18(4):657-86.
51. Platteel T, Cohen Stuart J, de Neeling A, Voets G, Scharringa J, van de Sande N, et al. Multi-centre evaluation of a phenotypic extended spectrum  $\beta$ -lactamase detection guideline in the routine setting. *Clinical microbiology and infection*. 2013;19(1):70-6.
52. Leverstein-van Hall MA, Fluit AC, Paauw A, Box AT, Brisse S, Verhoef J. Evaluation of the Etest ESBL and the BD Phoenix, VITEK 1, and VITEK 2 automated instruments for detection of extended-spectrum beta-lactamases in multiresistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Journal of clinical microbiology*. 2002;40(10):3703-11.
53. M'Zali FH, Chanawong A, Kerr KG, Birkenhead D, Hawkey PM. Detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the MAST DD test, the double disc and the Etest ESBL. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2000;45(6):881-5.
54. Towne TG, Lewis JS, Herrera M, Wickes B, Jorgensen JH. Detection of SHV-type extended-spectrum beta-lactamase in *Enterobacter* isolates. *Journal of clinical microbiology*. 2010;48(1):298-9.
55. Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, et al. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Archives of internal medicine*. 2005;165(12):1430-5.
56. Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwaber MJ, Carmeli Y. Isolation of imipenem-resistant *Enterobacter* species: emergence of KPC-2 carbapenemase, molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2008;52(4):1413-8.
57. Vading M, Samuelsen Ø, Haldorsen B, Sundsfjord A, Giske C. Comparison of disk diffusion, Etest and VITEK2 for detection of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* with the EUCAST and CLSI breakpoint systems. *Clinical microbiology and infection*. 2011;17(5):668-74.
58. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2012;18(5):432-8.
59. Buehler SS, Madison B, Snyder SR, Derzon JH, Cornish NE, Saubolle MA, et al. Effectiveness of Practices To Increase Timeliness of Providing Targeted Therapy for Inpatients with Bloodstream Infections: a Laboratory Medicine Best Practices Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical microbiology reviews*. 2016;29(1):59-103.
60. Ferrer R, Martin-Loeches I, Phillips G, Osborn TM, Townsend S, Dellinger RP, et al. Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour: results

- from a guideline-based performance improvement program. *Critical care medicine*. 2014;42(8):1749-55.
61. 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. *Critical care medicine*. 2017;45(3):486-552.
  62. Coyle MB, McGonagle L, Plorde JJ, Clausen CR, Schoenknecht F. Rapid antimicrobial susceptibility testing of isolates from blood cultures by direct inoculation and early reading of disk diffusion tests. *Journal of clinical microbiology*. 1984;20(3):473-7.
  63. Périllaud C, Pilmis B, Diep J, de Ponfilly GP, Vidal B, Couzigou C, et al. Prospective evaluation of rapid antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion on Mueller-Hinton rapid-SIR directly on blood cultures. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2019;93(1):14-21.
  64. Åhman J, Matuschek E, Kahlmeter G. EUCAST evaluation of 21 brands of Mueller-Hinton dehydrated media for disc diffusion testing. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2020;26(10):1412.e1-.e5.
  65. Brown D, Canton R, Dubreuil L, Gatermann S, Giske C, MacGowan A, et al. Widespread implementation of EUCAST breakpoints for antibacterial susceptibility testing in Europe. *Euro surveillance : bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2015;20(2).
  66. Åkerlund A, Jonasson E, Matuschek E, Serrander L, Sundqvist M, Kahlmeter G. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) in blood cultures: validation in 55 European laboratories. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2020;75(11):3230-8.
  67. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood culture bottles. Version 1.1 2019. Available from: <https://www.eucast.org>.
  68. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Breakpoint tables for Rapid AST directly from blood culture bottles, v 2.0. 2020.
  69. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing(EUCAST), Screening for resistance mechanisms using RAST v 1.0 May, 2019. Available from: [https://www.eucast.org/screening\\_for\\_resistance\\_mechanisms\\_with\\_rast/](https://www.eucast.org/screening_for_resistance_mechanisms_with_rast/).
  70. Weiss E, Zahar JR, Lesprit P, Ruppe E, Leone M, Chastre J, et al. Elaboration of a consensual definition of de-escalation allowing a ranking of  $\beta$ -lactams. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2015;21(7):649.e1-10.
  71. Madaras-Kelly K, Jones M, Remington R, Hill N, Huttner B, Samore M. Development of an antibiotic spectrum score based on veterans affairs culture and susceptibility data for the purpose of measuring antibiotic de-escalation: a modified Delphi approach. *Infection control and hospital epidemiology*. 2014;35(9):1103.
  72. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *The Lancet infectious diseases*. 2019;19(1):56-66.
  73. Chandrasekaran S, Abbott A, Campeau S, Zimmer BL, Weinstein M, Thrupp L, et al. Direct-from-blood-culture disk diffusion to determine antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacteria: preliminary report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *Journal of clinical microbiology*. 2018;56(3).
  74. Martins A, Wink P, Pereira D, Souza A, Aquino V, Barth A. Rapid antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae by disk diffusion directly from blood culture bottles using the EUCAST RAST breakpoints. *Journal of global antimicrobial resistance*. 2020;22:637-42.
  75. Mancini S, Bodendoerfer E, Kolensnik-Goldmann N, Herren S, Röthlin K, Courvalin P, et al. Evaluation of standardized automated rapid antimicrobial susceptibility testing of Enterobacterales-containing blood cultures: a proof-of-principle study. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2020;75(11):3218-29.
  76. FDA U. Class II Special Controls Guidance Document: Antimicrobial Susceptibility Test (AST) Systems; Guidance for Industry and FDA. Rockville, MD: US FDA; 2003.
  77. Clark RB LM, Loeffelholz MJ, Tibbetts RJ. Cumitech 31A, verification and validation of procedures in the clinical microbiology laboratory. 1st ed2009.

78. van Belkum A, Bachmann TT, Lüdke G, Lisby JG, Kahlmeter G, Mohess A, et al. Developmental roadmap for antimicrobial susceptibility testing systems. *Nature Reviews Microbiology*. 2019;17(1):51-62.
79. Jasuja JK, Zimmermann S, Burckhardt I. Evaluation of EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) for positive blood cultures in clinical practice using a total lab automation. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2020;39(7):1305-13.
80. Fröding I, Vondracek M, Giske CG. Rapid EUCAST disc diffusion testing of MDR *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: inhibition zones for extended-spectrum cephalosporins can be reliably read after 6 h of incubation. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2017;72(4):1094-102.
81. Valentin T, Koenig E, Prattes J, Wunsch S, Loizenbaur T, Krause R, et al. Implementation of rapid antimicrobial susceptibility testing combined with routine infectious disease bedside consultation in clinical practice (RAST-ID): a prospective single-centre study. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2021;76(1):233-8.
82. Pilmis B, Thy M, Diep J, Krob S, Périllaud C, Couzigou C, et al. Clinical impact of rapid susceptibility testing on MHR-SIR directly from blood cultures. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2019;74(10):3063-8.
83. Doern CD. The slow march toward rapid phenotypic antimicrobial susceptibility testing: are we there yet? *Journal of clinical microbiology*. 2018;56(4).
84. Messacar K, Parker SK, Todd JK, Dominguez SR. Implementation of rapid molecular infectious disease diagnostics: the role of diagnostic and antimicrobial stewardship. *Journal of clinical microbiology*. 2017;55(3):715-23.
85. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Land GA, et al. Integrating rapid pathogen identification and antimicrobial stewardship significantly decreases hospital costs. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2013;137(9):1247-54.
86. Verroken A, Defourny L, Le Polain De Waroux O, Belkhir L, Laterre P-F, Delmée M, et al. Clinical impact of MALDI-TOF MS identification and rapid susceptibility testing on adequate antimicrobial treatment in sepsis with positive blood cultures. *PLoS One*. 2016;11(5):e0156299.
87. Zadka H, Raykhshtat E, Uralev B, Bishouty N, Weiss-Meilik A, Adler A. The implementation of rapid microbial identification via MALDI-ToF reduces mortality in gram-negative but not gram-positive bacteremia. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2019;38(11):2053-9.

## 8. EKLER

### EK-1. FORM-1 GRAM POZİTİF KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEĞİNDEN RAST UYGULANMA FORMU

TAKİP NO: GRAM POZİTİF	4.SAAT		6.SAAT		8.SAAT		SON		TANIMLAR Sinyal Saati: Direk Bakı:				
	Saat:		Saat:		Saat:								
Kümelı kok	ZON	S/R	ZON	S/R	ZON	S/R	ZON	S/R		4	6	8	SON
STAFİLOKOK(MÜLLER)									KAT				
FOX									KOA(4.SA)				
NOR									D TEST				
GM													
CC													
E													
LZD													
Zıncırlı ve dipkok													
ENTEROKOK(MÜLLER)									PYR(4.SA)				
AM									SYN				
IPM													
GM(30)													
VA													
TEC													
LZD													
PNÖMOKOK (KANLI)									P(OPTOKİN)				
OX									A(BASİTRASİN)AGBS:				
NOR									D TEST				
E													
AMPİRİK AB:	SİNYAL SONU AB:				RAST SONRASI AB VE SAATİ:								

**EK-2. FORM-2 GRAM NEGATİF KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEĞİNDEN RAST UYGULANMA FORMU**

TAKİP NO: GRAM NEGATİF	4.SAAT Saat:		6.SAAT Saat:		8.SAAT Saat:		SON		TANIM Sinyal Saati: Direk Bakı:				
	ZON	S/R	ZON	S/R	ZON	S/R	ZON	S/R		4	6	8	SON
ENTEROBACTERİCEA									ESBL				
TZP									KRB				
CTX									OKS				
CAZ													
MEM													
CIP													
AN													
GM													
TOB													
ETP													
FEP													
NONFERMANTER													
TZP													
CAZ													
IPM													
MEM													
CIP													
GM													
TOB													
SXT													
LEV													
AMPİRİK AB:	SİNYAL SONU AB:				RAST SONRASI AB VE SAATİ:								

## 9. ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Muhammet Rıdvan TAYŞI

Doğum yeri ve tarihi:

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu:

Yabancı dili: İngilizce

### II- Eğitimi

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi (2009-2015)

### III- Ünvanları

### IV- Mesleki Deneyimi

Karkamış Toplum Sağlığı Merkezi

### V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği (KLİMİK)

Türkiye İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (EKMUD)

### VI- Bilimsel İlgi Alanları

### VII- Bilimsel Etkinlikleri

#### Makale ya da Bildirinin adı

SCI veya SCI Expanded tarafından taranan dergilerde yayınlanmış araştırma makalesinde veya derlemede

The Association Between Vaccine Response and sCD30 Level in Patients Using Immunomodulator Drugs and Having Received Hepatitis B Vaccination

Aslı Haykır Solay, Selcan Gültuna, **Muhammet Rıdvan Tayşi**

FLORA 2020;25(1):91-97 • doi: 10.5578/flora.69260

<p>Uluslararası bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan sözlü bildirilerde SS-075 Kan Kültürü Şişelerinden Direkt Hızlı Antibiyotik Duyarlılık Testi (d- RAST) Çalışılması ve Bu Testin Antibiyoterapiye Etkisi</p> <p><b>Muhammet Ridvan Tayşi</b>, Gönül Çiçek Şentürk, Elif Çalışkan, İrfan Şencan</p> <p>8.Türkiye Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği(EKMUD) bilimsel kongresi(Online Kongre) , 24-29 Kasım 2020</p>
<p>Uluslararası bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan sözlü bildirilerde SS-064 Septik Artrit Olgularının Retrospektif Tanımlayıcı Epidemiyolojik Analizi</p> <p>Ali Acar, Derya Tunç, Hanife Uzar, <b>Muhammet Ridvan Tayşi</b>, Fatma Aybala Altay, İrfan Şencan</p> <p>8.Türkiye Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği(EKMUD) bilimsel kongresi(Online Kongre) , 24-29 Kasım 2020</p>
<p>Uluslararası bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan posterlerde Ps-290 Enfektif Endokardit Olgusunda Etken, Brusella mı? Stafilokok mu?</p> <p>Tuğba Özdemir, Müzeyyen Tuğçe Benli, <b>Muhammet Ridvan Tayşi</b>, İrfan Şencan</p> <p>8.Türkiye Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği(EKMUD) bilimsel kongresi(Online Kongre) , 24-29 Kasım 2020</p>
<p>Uluslararası bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan sözlü bildirilerde İnterlökin-6 COVID-19 ilişkili Akut Solunum Sıkıntısı Sendromlu Hastalarda Tedavi Değişikliği Kararında Kullanılabilecek Bir Parametre Olabilir mi? 3 Olgu Nedeniyle</p> <p>Meltem ŞİMŞEK, Fatma YILDIRIM, <b>Muhammet Ridvan TAYŞİ</b>, Gönül Çiçek ŞENTÜRK, Julide ERGİL</p> <p>Türk Yoğunbakım Derneği Uluslararası Katılımlı COVID-19 e-sempozyumu 26-28 Haziran 2020</p>
<p>Uluslararası bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan sözlü bildirilerde İnterlökin-6 COVID-19 ilişkili Akut Solunum Sıkıntısı Sendromlu Hastalarda Tedavi Değişikliği Kararında Kullanılabilecek Bir Parametre Olabilir mi? 3 Olgu Nedeniyle.</p> <p>Türk Yoğun Bakım Derneği, Uluslararası Katılımlı COVID-19 E-sempozyumu, 26- 28 Haziran 2020.</p> <p>Şimşek M, Yıldırım F, <b>Tayşi R</b>, Şentürk Çiçek G, Ergil J</p>

<p>Uluslararası bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan posterlerde PS-067 İyileşerek taburcu edilen bir tetanoz olgusu</p> <p><b>Muhammet Rıdvan Tayşi</b>, Feray Aycan, Emin Ediz Tütüncü, Recai Ergün, Gülnur Kul, Yunus Gürbüz, İrfan Şencan</p> <p>XIX. Türk Klinik Mikrobiyoloji Ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (Uluslararası), 4 Nisan 2017 Belek, Antalya</p>
<p>Uluslararası Bilimsel Kongre, Sempozyum Ve Panellerde Sunulan Posterlerde PS-39 Kronik Q Ateşi: Olgu Sunumu</p> <p>Derya Tunç, Hanife Uzar, Ali Acar, <b>Muhammet Rıdvan Tayşi</b>, İrfan Şencan</p> <p>Buhasder Kongresi 2019, Uluslararası Katılımlı, 8. Tepecik Enfeksiyon Günleri, 16-20 Ekim 2019, Selçuk/İzmir</p>
<p>Uluslararası bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan posterlerde P-129 Parenteral Nutrisyon Desteği Alan Hastada Görülen Candida Parapsilozis Endokarditi</p> <p><b>Muhammet Rıdvan Tayşi</b>, Yunus Gürbüz, Hanife Uzar, Emin Ediz Tütüncü, Feray Aycan, Orçun Soysal, Merve Sifil, İrfan Şencan</p> <p>XIX. Türk Klinik Mikrobiyoloji Ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (Uluslararası), 28-31 Mart 2018 Belek, Antalya</p>
<p>Ulusal Bilimsel Kongre, Sempozyum Ve Panellerde Sunulan Sözlü Bildirilerde Sb66-107 Brezilya Seyahati Sonrası Tanı Alan Dengue Ateşi Olgusu</p> <p>Orçun Soysal, <b>Muhammet Rıdvan Tayşi</b>, Hanife Uzar, Ali Acar, İrfan Şencan</p> <p>34. Ankem Akılcı Antibiyotik Kullanımı Kongresi, 1-5 Mayıs 2019 Marmaris</p>
<p>Ulusal Bilimsel Kongre, Sempozyum Ve Panellerde Sunulan Sözlü Bildirilerde Sb64-105 İmmünkompetan Hastada Nadir Bir Menenjit Etkeni: Sphingomonas Paucimobilis</p> <p><b>Muhammet Rıdvan Tayşi</b>, Orçun Soysal, Hanife Uzar, Ali Acar, İrfan Şencan</p> <p>34. Ankem Akılcı Antibiyotik Kullanımı Kongresi, 1-5 Mayıs 2019 Marmaris</p>
<p>Ulusal bilimsel etkinliklerde poster ve sözlü sunumda 2. lik ödülü</p> <p>COVID-19 ilişkili ARDS hastalarının medikal yönetiminde IL-6'nın rolü</p> <p>Meltem Şimşek, Fatma Yıldırım, <b>Muhammet Rıdvan Tayşi</b>, Halil İbrahim Dural</p>

<p>17. Ulusal Dahili ve Cerrahi Bilimler Yoğunbakım E-kongresi, 9. Avrasya Yoğunbakım E-toplantısı</p>
<p>Ulusal Bilimsel Kongre, Sempozyum Ve Panellerde Sunulan Sözlü Bildirilerde</p> <p>Olası COVID-19 Hastalarında Serolojik IgM/IgG Hızlı Antikor Testinin Tamamlayıcı Rolü</p> <p>Fatma YILDIRIM, Meltem ŞİMŞEK, Halil İbrahim DURAL, <b>Muhammed Rıdvan TAYŞİ</b>, İrfan Şencan</p> <p>17. Ulusal Dahili ve Cerrahi Bilimler Yoğunbakım E-kongresi, 9. Avrasya Yoğunbakım E-toplantısı</p>
<p>Ulusal Bilimsel Kongre, Sempozyum Ve Panellerde Sunulan Sözlü Bildirilerde</p> <p>COVID-19 ilişkili 250 ARDS hastasının sonuçları: Pandemi başlangıcından itibaren bir eğitim araştırma hastanesinin deneyimi</p> <p>Fatma YILDIRIM, Meltem ŞİMŞEK, Halil İbrahim DURAL, Muhammed APAYDIN, <b>Muhammed Rıdvan TAYŞİ</b>, Julide ERGİL</p> <p>17. Ulusal Dahili ve Cerrahi Bilimler Yoğunbakım E-kongresi, 9. Avrasya Yoğunbakım E-toplantısı</p>
<p>Ulusal Bilimsel Kongre, Sempozyum Ve Panellerde Sunulan Posterlerde</p> <p>Kırım Kongo Kanamalı Ateşi ve COVID-19 Birlikteliği</p> <p>Meltem Şimşek, Fatma Yıldırım, <b>Muhammed Rıdvan Tayşi</b>, Atakan Sezgi, İrfan Şencan</p> <p>17. Ulusal Dahili ve Cerrahi Bilimler Yoğunbakım E-kongresi, 9. Avrasya Yoğunbakım E-toplantısı</p>
<p>Uluslararası bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan sözlü bildirilerde</p> <p>SS-61 Spondilodiskitlerin Epidemiyolojisi ve Tedavi Yanıtına Etki Eden Faktörler: Retrospektif Gözlemsel Kohort Çalışması</p> <p>Ali Acar, <b>Muhammed Rıdvan Tayşi</b>, Fatma Aybala Altay, Hanife Uzar, Derya Tunç, İrfan Şencan</p> <p>21. Türk Klinik Mikrobiyoloji Ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 26-30 Mayıs (Çevrimiçi Kongre)</p>
<p>Uluslararası yayınevinde yayınlanmış kitap bölümü</p> <p>Covid-19 ve Sağlık Araştırmaları-1 (Efe Akademi) (Mayıs 2021)</p> <p>Covid-19 hastalarında ko-enfeksiyonlar ve sekonder enfeksiyonlar: Sıklığı ve yönetimi</p>

**Muhammet Rıdvan Tayşı**, Fatma Yıldırım

Uluslararası bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan sözlü bildirilerde  
Risks and characteristics of secondary infections in COVID-19 associated ARDS  
patients

**Muhammet Rıdvan Tayşı**, Fatma Yıldırım, Meltem Şimşek, Halil İbrahim Dural,  
İrfan Şencan

23. International Intensive Care E-Symposium

