



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SEPSİS TANISINDA YENİ MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN
KULLANILMASI

Burcu YERTUT
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Yasemin ZER

Gaziantep
2012

T. C.

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SEPSİS TANISINDA YENİ MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN
KULLANILMASI**

**Burcu YERTUT
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Yasemin ZER**

**Gaziantep
2012**

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SEPSİS TANISINDA YENİ MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN
KULLANILMASI

BURCU YERTUT

Tez Savunma Tarihi:27.06.2012

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof.Dr.Mehmet TARAKÇIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof.Dr. Ayşen BAYRAM
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı V.

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Yasemin ZER
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Doç.Dr. Fahriye Ekşi

Doç. Dr. Yasemin ZER

Yrd. Doç. Dr. İ.Halil Kılıç

İmzası

.....

.....

.....

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

27.06.2012

BURCU YERTUT

TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca desteğini ve yardımını esirgemeyen başta tez danışman hocam Doç. Dr. Yasemin ZER'e, eğitim sürecimde deneyimlerini ve bilgi birikimleri ile her türlü yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım, Prof. Dr. İclal BALCI'ya, Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL'e, Prof. Dr. Ayşen BAYRAM'a, Doç. Dr. Fahriye EKŞİ'ye teşekkür ederim.

Her anımda yanımda olan beni ben yapan; bugünlere getirip maddi ve manevi desteklerini esirgemeyip hep daha iyiye teşvik eden düşündüğüm zaman hep onurlanıp güven duyduğum canım aileme özellikle de canım babama sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tanımlar.....	3
2.1.1. Enfeksiyon.....	3
2.1.2. Bakteriyemi.....	3
2.1.3. Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu (SİYS veya SİRS).....	3
2.1.4. Sepsis.....	4
2.1.5. Ciddi Sepsis.....	4
2.1.6. Septik Şok.....	4
2.1.7. Multipl organ yetmezliği (MODS).....	4
2.2.Etiyoloji.....	4
2.3. Hastane Kaynaklı Bakteriyemi	7
2.3.1. Primer bakteriyemi.....	7
2.3.1.1.Laboratuvar tarafından doğrulanmış kan dolaşım sistemi enfeksiyonu.....	7
2.3.2. Sekonder bakteriyemi.....	8
2.3.2.1.İntravasküler Kateter ile ilişkili Bakteriyemi.....	8
2.4. Epidemiyoloji.....	8

2.5. Patogenez ve Patoloji.....	9
2.5.1. Konağa ait faktörler ve enfeksiyonun giriş kapısı.....	10
2.5.2. Mikrobiyal faktörler.....	10
2.6. Fizyopatoloji.....	12
2.6.1. Normal konağın enfeksiyona cevabı.....	12
2.6.1.1. Sistemik cevabın santral sinir sisteminden kontrolü.....	12
2.6.1.2. Sistemik cevapta karaciğer ve dalağın rolü.....	12
2.6.1.3. Akut faz cevabı.....	13
2.6.2. Enfeksiyona patolojik: konak cevabı.....	14
2.6.2.1. Mikrosirküler disfonksiyon.....	14
2.6.2.2. Damar endotelinde aktivasyon ve hasarlanma.....	14
2.6.2.3. Sitokinler ve mediyatörler.....	15
2.7. Tanı.....	15
2.7.1. Non-Spesifik Testler.....	16
2.7.1.1. Tam kan sayımı, koagülasyon testleri.....	16
2.7.1.2. Biyokimyasal testler.....	17
2.7.1.3. CRP.....	18
2.7.1.4. Prokalsitonin.....	19
2.7.2. Spesifik Tanı Yöntemleri.....	20
2.7.2.1. Kan kültürü.....	20
2.7.2.1.A. Kan kültürü için kullanılan yöntemler.....	22
2.7.2.1.B. Alınacak kan kültürü sayısının belirlenmesi...23	

2.7.2.1.C. Kan kültürü alma tekniği.....	23
2.7.2.2. Moleküler yöntemler.....	24
2.8. Tedavi.....	25
2.8.1. Antimikrobial Tedavi.....	25
2.8.2. Fokal İnfeksiyon Odağının Ortadan Kaldırılması.....	26
2.8.3. Destek Tedavisi.....	27
2.9. Prognoz.....	27
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Kan Kültürleri.....	28
3.2. Bakterilerin tanımlanması.....	29
3.2.1. Konvansiyonel Yöntemler	30
3.2.1.1. Gram boyama.....	30
3.2.1.2. Katalaz Testi.....	31
3.2.1.3. Oksidaz testi.....	31
3.2.1.4. Koagülaz Testi.....	32
3.2.2. Bakterilerin Biyokimyasal Özellikleri.....	32
3.2.3. Moleküler Yöntemler.....	34
3.2.3.1. DNA izolasyonu.....	35
3.2.3.2. DNA Amplifikasyonu	36
4.BULGULAR.....	39
5.TARTIŞMA.....	44
6.KAYNAKLAR.....	50
7.ÖZGEÇMİŞ.....	58

KISALTMALAR

KDSE	Kan Dolaşım Sistemi Enfeksiyonları
NNIS	National Nosocomial Infection Surveillance
SİYS veya SİRS	Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
DIK	Dissemine İntervasküler Koagölasyon
ARDS	Erişkin Solunum Yetmezliği Sendromu
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesi
TSST-1	Toksik şok Sendromu Toksini
SSS	Santral Sinir Sistemi
HPA	Hipotalamik-Pituitar-Adrenal
IL-1	İnterlökın-1
IL-6	İnterlökın-6
IL-4	İnterlökın-4
TNF	Tümör Nekroz Faktör
GSF	Granulosit Koloni Stimule Edici Faktör
IL-10	İnterlökın-10
MSH	Melanosit Uyarıcı Hormon
IL-1Ra	interlökın 1 Reseptör Antikoru
CRP	C-Reaktif Protein
PAH	Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1
EPCR	Endotel Protein C Reseptörü
PAF	Trombosit Aktive Eden Faktör
GM-CSF	Granölösit Monosit Koloni Stimule Eden Faktör
BUN	Kan Üre Nitrojeni
PCT	Prokalsitonin
MODS	Çoklu Organ Yetmezlik Sendromu
PZR,PCR	Polymerase Chain Reaction
ETA	Endotrakeal Aspirat

DNA	Deoksiribonükleik asit
CMV	Cytomegalovirüs
AIDS	Acquired Immuno Deficiency Syndrome
GBS	Guillain- Barre Sendromu

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Sepsis etkenleri ve rastlanma oranları

Tablo 2. Sepsis oluşumunda predispoze faktörler

Tablo 3. Septik Şok patogenezinde rol Oynayan bakteriyel yapılar

Tablo 4. Moleküler sepsifast ile saptanan etkenler

Tablo 5. Kan kültürü örneklerinin kliniklere göre dağılımı

Tablo 6. Kan kültüründe saptanan mikroorganizmaların dağılımı

Tablo 7. Moleküler yöntemle saptanan sonuçların dağılımı

Tablo 8. Kan kültürü ve sepsis paneliyle aynı bulunan sonuçlar

Tablo 9. Kan kültüründe ve moleküler olarak farklı saptanan etkenler

ÖZET

SEPSİS TANISINDA YENİ MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN KULLANILMASI

Burcu YERTUT

Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Yasemin ZER

Haziran 2012, 58 sayfa

Bakteriyemi, ciddi seyirli infeksiyonlardan biri olup, yüksek mortalite ve morbidite sebebidir. Tanının hızla konarak tedaviye başlanması önemlidir. Bu çalışmada bakteriyemi tanısında kan kültürü ve PCR testinin sonuçları karşılaştırılmıştır. Çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen örnekler ile prospektif olarak yapıldı. Haziran-Eylül 2011 tarihleri arasında kan kültürü istenen hastalardan eş zamanlı olarak sepsis paneli çalışılarak sonuçları değerlendirildi. Belirtilen süre içerisinde çalışmaya 164 hastaya ait örnek alındı. Kan kültürü BacT-Alert (Biomerieux) tam otomatik kan kültürü sistemine alındı. Bakterilerin tanımlanmasında Vitek2 (Biomerieux) tam otomatik bakteri tanımlama sistemi kullanıldı. Moleküler olarak bakteriyel DNA varlığı multiplex real-time PCR (LightCyler SeptiFast, Roche Diagnostics) ile hazır bir kit kullanarak araştırıldı. Çalışmaya alınan hastaların, 77'si kadın (% 46.95), 87'si erkek (% 53. 04) olarak bulundu. Hastalar 1-92 yaşları arasında idi. Çalışmaya alınan kan kültürü örneklerinin 113'sinde (% 68.2) üreme saptanmazken, 51 örnekte (% 31.09) bir mikroorganizma saptandı. Kan kültürü örneklerinde en fazla tespit edilen bakteri KNS olarak bulunmuştur (n: 27, % 52.9). Moleküler yöntemle bakteriyemi etkeni araştırdığımız 164 hastanın, 114'ünde (% 69.5) herhangi bir etken saptanmazken, 50 (% 30.5) örnekte bir ve/veya iki etken saptanmıştır. Moleküler olarak en fazla saptanan mikroorganizma KNS olarak bulunmuş olup, tespit edilen 53 mikroorganizmanın 18'inde (% 35.2) oluşturduğu bulundu. Her iki yöntemle 164 örneğin 95'inde benzer sonuca ulaşılmış (uyum % 57.9), 68 örnekte farklı sonuçlar alınmıştır. Kan kültüründe üreme olmayan 30 örnekte moleküler olarak bir etken saptanmış, moleküler olarak bir etken saptanmayan 31 örnekte de kan kültüründe üreme bulunmuştur. Her iki yöntemle de 8 örnekte farklı etkenler saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Bakteriyemi, kan kültürü, real-time PCR, sepsis, tanı

ABSTRACT

EXAMINATION OF NEW MOLECULAR METHODS IN SEPSIS DIAGNOSIS

Burcu YERTUT

Master Thesis, University of Gaziantep, Institute of Medical Sciences

Department of Microbiology

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Yasemin ZER

June 2012, 58 pages

Bacteriemia is among infections with severe course and cause of high mortality and morbidity. Quick diagnosis and commencement of treatment bears importance. This study compared blood culture and PCR test results in diagnosing bacteriemia. The study was prospectively conducted on samples sent to Microbiology Laboratory of the University of Gaziantep, Research and Application Hospital of Medicine Faculty. Of the patients that were required blood culture between the dates of June and September 2011, sepsis panel was implemented simultaneously and the results were then evaluated. Samples of 164 patients were taken within the indicated period of time. Blood cultures were taken to fully automated BacT-Alert (Bieomerieux) blood culture system. Fully automated Vitek2 (Biomerieux) bacterial identification system was used to define bacteria. Molecular bacterial DNA presence was investigated by utilizing a ready-to-use multiplex real-time PCR (LightCycler SeptiFast, Roche Diagnostics) kit. Of the patients included in the study, 77 were female (46.95%), and 87 were male (53.04%). Ages of the patients ranged between 1 and 92. Of the blood culture samples included in the study, was not isolated in 113 (68.2%), one microorganism was established in 51 samples (31.09%). The most identified bacteria in blood culture samples was found to be CNS (n: 27, 52.9%). Of 164 patients we investigated to find bacteriemia agent by molecular method, no agents were established in 114 (69.5%), one and/or two agent(s) were found in 50 (30.5%) samples. Molecularly the highest established microorganism was found to be CNS, and it was concluded to comprise 18 (35.2%) of 53 found microorganisms. Similar results were obtained for 95 of 164 samples by both methods (compliance 57.9%), and 68 samples gave different results. Molecularly, one agent was established in 30 samples in which no isolation was found in blood culture; and isolations were detected in the blood cultures of 31 samples found with molecularly. Different agents were determined in 8 samples by both methods.

Keywords: Bacteriemia, blood culture, real-time PCR, sepsis, diagnosis

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bakteriyemi ve/veya sepsis, en ciddi seyirli enfeksiyon türlerinden biri olup, yüksek mortalite ve morbidite ile seyreder. Etken olan bakteriler hastaneden hastaneye değişiklik göstermektedir. Spesifik etkenin saptanması için geçen süre içerisinde genellikle, rehberlerde önerilen ampirik tedavi protokolleri uygulanır. Ancak rasyonel tedaviye ne denli hızlı başlanır ise prognozun o denli iyi olduğu birçok çalışma ile desteklenmiştir. (1)

Sepsis, Hippocrates zamanında tanımlanmış bir klinik tablodur (1). Buna rağmen tablonun kompleks ve karmaşıklığı günümüzde dahi terminolojisinde zaman zaman farklı ifadelerin kullanılmasına neden olmaktadır (2, 3). Kanda bakteri bulunması bakteriyemi olarak ifade edilirken, bakteriyemi tablosunun uzun süreli devamı sonucu, immünolojik mekanizmaların da olaya katılmasıyla beliren tablo sepsis olarak tanımlanır. Bakteriyemi geçici bir tablo olabileceği gibi, klinik anlamda en uç nokta sayılabilen, genellikle çoklu organ yetmezliğine neden olan sepsis (SIRS; systemic inflammatory response syndrome), septik şok tablosuna dek ilerleyebilir. Klinik olarak ayrı tablolar olarak ifade edilen bu kavramlar, rutin kullanımda birbiri yerine de kullanılmaktadır (3).

Sepsis toplum kaynaklı veya hastane kaynaklı (nozokomiyal) olarak ikiye ayrılır. Bir hastanın hastaneye yattıktan 48-72 saat sonra alınan kan kültürlerinde klinik olarak anlamlı kan kültür pozitifliği nozokomiyal bakteriyemi olarak isimlendirilir (4).

Bakteriler, virüsler, mantarlar, parazitler sepsise neden olabileceği gibi, ağır travma veya pankreatit gibi noninfeksiyöz olaylarda da gelişebilmektedir. Olguların yarısında etken gösterilememesine karşın, bu grubun çoğunluğunun antibiyotik tedavisine yanıt vermesi, bu hastalarda da etkenin bakteriyel olduğunu düşündürmektedir (5).

Sepsis, septik şok ve organ yetmezliği gibi sepsis ile ilgili klinik tabloların gerçek insidansını vermek ülkemiz için olduğu gibi diğer ülkeler için de zordur. Bunda klinik tablonun tanımında görüş birliği olmamasının yanında, hastalığın bildirimi zorunlu bir hastalık olmamasının da rolü büyüktür. Bu nedenle gerçek rakamlar vermek zordur.

Buna rağmen, sepsis g

örölme sıklığında son yıllarda birçok ülkede önemli artışlar olduğu dikkati çekmektedir. ABD’de yılda 70.000-300.000 sepsis olgusu görüldüğü ve 30.000-100.000 olgunun sepsis nedeniyle kaybedildiği belirtilmektedir. Hollanda’da bir üniversite hastanesinde yapılan çalışmada, hastaneye yatırılan her 1000 hastanın 13.6’sında sepsis sendromu gözlenmiştir (6). Ülkemizde sepsis ile ilgili en geniş çalışma Hacettepe Üniversitesi’nde yapılmıştır. 1983-1989 yılları arasındaki yedi yıllık dönemdeki Gram negatif bakteriyemi olguları değerlendirilmiş, yatan hastalar arasında insidansı 4.2/1000 ve mortalitesi % 45 olarak bulunmuştur.(6)

Bakteriyemi tanısının ivedilikle konup, tedaviye başlanması ile prognoz arasında, erken tanı, erken tedavi, iyi prognoz şeklinde bir korelasyon vardır. Bundan dolayı tanı amacıyla kullanılan çok sayıda test geliştirilmiştir.(6)

Bakteriyemi tanısında nonspesifik tanı testlerinin kullanımı yaygındır. Prokalsitonin, beyaz küre sayısı, CRP düzeyi gibi özgül olmayan testler bu gruptadır. Ancak bunlar klinik de tanı koymak için yeterli olmayabilir. Rutin laboratuarda bakteriyeminin spesifik tanısı, etkenin kan kültüründe üretilmesiyle konmaktadır. Bu tanı yöntemi halen altın standart olarak kabul edilmektedir. Kan kültüründe etkenin saptanabilmesi için en gelişmiş sistemlerde dahi belirli bir süreye gereksinim vardır. Süre dışında, örneğin alınma zamanı, hastaların antibiyotik alıyor olması, izolasyonları zor olan bakteriler gibi sebeplere bağlı olarak her zaman etkenin saptanmasının mümkün olmaması gibi bazı faktörler kan kültürü testlerinin başlıca dezavantajlarıdır.(6)

Son yıllarda birçok alanda olduğu gibi bakteriyemi tanısına yönelik moleküler testler geliştirilmiş, aynı anda çok sayıda etkenin saptanabildiği multiplex PCR testleri ile tanıya yeni bir boyut kazandırılmıştır. Biz de bu çalışmada bakteriyemi tanısında altın standart kabul edilen kan kültürü testleri ile moleküler olarak etkenlerin saptanmasını sağlayan hazır bir multipleks PCR testini karşılaştırarak, tanısal değerini ve rutinde kullanıma uygunluğunu irdelemeyi amaçladık. (6)

2. GENEL BİLGİLER

Kanda bakterinin bulunmasına bakteriyemi, bakteriyemi sonucu vücutta oluşan sistemik inflamasyon bulgularının ön planda olduğu klinik tabloya da sepsis denir. Bakteriyemi ve/veya sepsis birbiriyle ilgili ancak farklı klinik tablolardır. Bu klinik tabloların en önemli özelliği, kanda bir bakterinin varlığı ve yüksek morbidite ve mortaliteye sebep olmalarıdır.(1)

Sepsise eşlik eden klinik tabloyu ilk kez, M.Ö. 400 yılında tanımlayan Hippocrates, “akut bir hastalıkta ekstremitelerin soğuması kötü bir belirtidir” ifadesini kullanmıştır (1). Bu tanımlamadan yaklaşık 24 asır sonra günümüzde, sepsis fizyopatolojisindeki gelişmelere karşın, terminolojideki karmaşanın sürdüğü gözlenmektedir. 1991 yılında Society of Critical Care Medicine ve American Collage of Chest Physicians’ın konsensus toplantısında enfeksiyon, bakteriyemi, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), sepsis, septik sok ve multipl organ disfonksiyon sendromuna (MODS) ilişkin evrensel tanımlamalar geliştirilmiştir (2).

2.1. Tanımlar

2.1.1. Enfeksiyon; mikroorganizmaların varlığına ya da bunların normalde steril olan konak dokusuna invazyonuna karşı oluşan inflamatuvar yanıtla karakterize bir mikrobiyal fenomendir.

2.1.2. Bakteriyemi; kanda canlı bakterinin bulunması durumudur.

2.1.3. Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SİYS veya SIRS); değişik ciddi klinik bulgularla kendini gösteren sistemik inflamatuvar yanıttır. Bu yanıt aşağıdaki durumların iki ya da daha fazlasıyla kendini gösterir:

- Vücut ısı; $>38^{\circ}\text{C}$ ya da $<36^{\circ}\text{C}$
- Kalp hızı; >90 atım/dk
- Solunum sayısı; $>20/\text{dk}$ ya da $\text{PaCO}_2 < 32 \text{ mmHg}$
- Beyaz küre sayısı; >12.000 hücre/ mm^3 , <4000 hücre/ mm^3 ya da $>\%10$ immatur hücre formların görülmesidir.

2.1.4. Sepsis; Enfeksiyona sistemik inflamatuvar cevap sepsis olarak isimlendirilir. İnfeksiyon sonucu SIRS bulgularının iki veya daha fazlasının bulunmasıdır.

2.1.5. Ciddi Sepsis; birlikte organ disfonksiyonu, dolaşım yetmezliği ya da hipotansiyonun bulunduğu sepsis durumudur.

2.1.6. Septik Şok; uygun sıvı replasmanına karşın hipotansiyon ve şokun gözlendiği sepsis tablosudur.

2.1.7. Multipl organ yetmezliği (MODS); sepsis, septik şok ile birlikte bozulmuş organ fonksiyonu, erişkin solunum yetmezliği sendromu (ARDS), böbrek yetmezliği, karaciğer yetmezliği ve yaygın damar içi pıhtılaşma (dissemine intervasküler koagülasyon; DIK) gibi klinik durumların bulunmasıdır (3).

2.2. Etiyoloji

Sepsise neden olan mikroorganizmaların sıklığı, sepsisin hastane içi ya da hastane dışında gelişmiş olmasına göre değişiklik gösterir.

Toplumda kazanılmış sepsis olgularında en sık rastlanan etken mikroorganizmalar; *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus*'tur (6). Hastane içinde gelişen sepsise neden olan mikroorganizmalar ise yıllara göre bazı değişiklikler göstermiştir. Antibiyotiklerin kullanım alanına girmesinden önceki 1950'li yıllarda Gram pozitif bakteriler ön sırada olup sıklıkla *S. aureus* ve *Streptococcus pyogenes* etken olarak saptanıyordu. Ancak antibiyotiklerin kullanıma girmesi ile bu Gram pozitif bakterilerin neden olduğu hastalıklar tedavi edilebilir hale gelmiş ve 1960, 70 ve 80'li yıllarda Gram negatif bakteriler gittikçe artan oranda (olguların % 50'sinden fazlasında) sepsis etkeni olarak izole edilmeye başlanmıştır (6). Değişik çalışmalarda; Gram negatif bakterilerin sepsisli hastalarda % 20-64, Gram pozitif bakterilerin ise % 27-74 arasında etken olarak izole edildiği bildirilmiştir. Gram negatif bakteriyel sepsislerde en sık etkenler, sıklık sırasına göre; *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.*, *Acinetobacter spp.* ve *Klebsiella spp.* ile diğer nadir Gram negatif bakterilerdir. Gram pozitif bakteriyel sepsislerde ise; koagülaz negatif stafilokoklar, *S. aureus* ve enterokok türleri en sık etken olarak izole edilmektedir (6). Hastane kaynaklı sepsis etkenleri ve rastlanma oranları Tablo1'de gösterilmiştir (7).

Tablo 1. Hastane kaynaklı sepsis etkenleri ve rastlanma oranları

Etiyoloji	Oran (%)
Gram pozitif bakteriler	30-50
Metisilin duyarlı <i>S. Aureus</i>	14- 24
Metisilin dirençli <i>S. Aureus</i>	5-11
Diğer stafilokok türleri	1-3
<i>S. pneumoniae</i>	9-12
Diğer streptokok türleri	6-11
<i>Enterococcus</i> spp.	3-13
Anaeroplara	1-2
Diğer Gram pozitif bakteriler	1-5
Gram negatif bakteriler	25-30
<i>E. coli</i>	9-27
<i>P. aeruginosa</i>	8-15
<i>K. pneumoniae</i>	2-7
Diğer enterobakterler	6-16
<i>H. influenzae</i>	2-10
Anaeroplara	3-7
Diğer Gram negatif bakteriler	3-12
Mantarlar	2-5
<i>Candida albicans</i>	1-3
Diğer kandida türleri	1-2
Parazitler	1-3
Virüsler	2-4

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Gram pozitif bakterilerin, özellikle stafilokok sepsislerinin görülme sıklığında artış dikkati çekmektedir. Bakteri spektrumunun tekrar Gram pozitif mikroorganizmalara kayma nedenleri arasında hızla kullanıma giren üçüncü kuşak sefalosporinler ve kinolonlar gibi Gram negatif bakterilere çok etkili yeni antibiyotiklerin kullanımının artması, tıbbın artan olanakları ile daha uzun yaşama

imkanı sağlanan kanser, kollajen doku hastalığı gibi hastalıkları olan kişilerde uzun süreli kalıcı intravasküler kateter uygulamasının artması, değişik vücut içi protez (kalça, diz gibi eklem protezleri, kalp kapakçıkları) kullanımının artması, kronik ambulator periton diyalizi gibi yöntemlerin geliştirilmesi sayılabilir. Birçok vücut bölgesinde yabancı materyallerin kullanıma girmesi ile, bu materyale yapışabilme özelliği olan koagülaz negatif stafilocokların etken oldukları sepsis insidansında önemli bir artış olmuştur. Sepsis olgularında enterokoklara da giderek daha sık rastlanmaktadır. Bu durum, geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin uzun süreli kullanımı ile paralellik göstermektedir (8).

Sepsis olgularında en sık izole edilen anaerob etken *Bacteroides fragilis* ve *Fusobacterium* türleridir. Diğer anaeroplara daha az sıklıkla rastlanır (6). Ayrıca son yıllarda sepsis olgularının yaklaşık % 5'i başta *Candida* türleri olmak üzere mantarlarla gelişmektedir. Bu durumu hazırlayan risk faktörleri arasında uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, parenteral hiperalimentasyon, intravasküler kateter uygulaması ve kortikosteroid tedavisi sayılabilir (8, 9)

National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) verilerine göre hastane kökenli sepsis gelişen hastaların % 65'inde tek, % 20'sinde ise birden fazla mikroorganizma (polimikrobiyal sepsis) saptanmaktadır (8).

Gram negatiflerin neden olduğu, kültür-pozitif enfeksiyonların % 50'sinde, Gram pozitiflerde ise % 25 oranında septik şok tablosu gelişir (10, 11).

Splenektomize bir hastada ilk akla gelecek sepsis etkenleri *H. influenzae*, pnömokok, meningokok ve *Capnocytophaga* olmalıdır. İmmüsuprese konakta özellikle nötropeni varlığında *P. aeruginosa* akla gelmeli fakat çok geniş bir yelpazenin etken olabileceği de hatırlanmalıdır. Tamamen sağlıklı birinde ani başlayan sepsis tablosunda öncelikle pnömokok ve meningokok olasılığı akla gelmelidir. (10,11)

Yenidoğan sepsisi erken (< 7gün) ya da geç başlangıçlı olabilir. Etkenler intrauterin döneminde ya da doğum sırasında ve sonrasında bulaşabilirler. Bu tabloda grup B streptokoklar (GBS) ve *E. coli* öncelikle hatırlanmalıdır.(10,11)

Mycobacterium avium-intracellulare AIDS olgularında sepsis nedeni olabilir. *Mycobacterium tuberculosis*'in de sepsis kliniği oluşturabileceği belirtilmiştir.

Viruslar arasında CMV'e sepsis olgularında özellikle sık rastlanmaktadır.

Candida cinsi mantarlar giderek daha çok sepsis etkeni olarak saptanırken intravenöz lipid solüsyonları ile beslenen hastalarda *Mallessezia furfur* sepsis etkeni olarak ortaya çıkabilir. Yanık hastalarında *Fusarium* cinsi mantarlar da sepsis oluşturabilirler.

Parazitler içinde *Plasmodium falciparum*'un etken olduğu sıtma olgularında sepsis kliniği belirlenmiştir (12).

2.3. Hastane Kaynaklı Bakteriyemi

Hastaneye yattıktan 48-72 saat sonra ortaya çıkan bakteriyemilerdir. Bazı araştırmacılar, sağlık bakımı ile ilişkili bakteriyemilerin de hastane kaynaklı bakteriyemi grubuna sokulması gerektiğini öne sürmüştür. Sağlık bakımıyla ilişkili bakteriyemiler, uzun süreli bakım merkezlerinde tedavi gören hastalar, ayaktan tedavi uygulanan hastalar ya da evde bakımı yapılan hasta gruplarından oluşmaktadır (13).

Hastane kaynaklı bakteriyemi, hastane enfeksiyonları arasında mortalitesi en yüksek olan ve invaziv girişimlere paralel olarak sıklığında artış saptanan enfeksiyon türleridir. Her yıl ABD'inde 250.000 insanın yaşamıyla sonlanan önemli mortalite nedenidir. Nozokomiyal bakteriyemiler çoğunluklu kateter kullanımı ile ilişkilidir. Üriner kateter kullanımı da daha az oranda da olsa sorumlu tutulur.

Hastane kaynaklı bakteriyemiler primer ya da sekonder gelişebilir. (13)

2.3.1. Primer bakteriyemi

Pozitif kan kültürü elde edildiği zaman, hastada aynı bakterinin üretildiği başka bir anatomik odağın bulunmaması durumu primer bakteriyemi olarak tanımlanır. Primer bakteriyemi oranları CDC'nin National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) verilerinde % 64'lük oran ile daha ön sıralarda yer almaktadır. Primer bakteriyemiler, laboratuvar tarafından konfirme edilmiş enfeksiyonlar olabileceği gibi, CDC tarafından belirtildiği gibi klinik sepsis olarak da tanımlanabilir (14). Klinik sepsis NNIS verilerinde bildirilen bakteriyemi olgularını ancak % 5'ini oluşturmaktadır.

2.3.1.1. Laboratuvar tarafından doğrulanmış kan dolaşım sistemi enfeksiyonu

Bu hastalar klinik olarak bakteriyemi bulgularını taşıyan ve kültür sonuçları kontaminasyon olasılığı dışında bulunan hastaları kapsar. Ateş ($>38^{\circ}\text{C}$), titreme ve hipotansiyon gibi bulgulardan en az biri bulunmalıdır. Bakteri kan kültüründen izole edilmiş olmalı ve bu patojen vücudun bir başka bölgesinde enfeksiyon etkeni olarak sorumlu tutulmamalıdır. İzole edilen bakterilerin deriden kontamine olan bakteriler de olabileceği göz ardı edilmemelidir. Deri kontaminasyonunun ekarte edilmesi için; bu

bakteriler farklı zamanlarda alınmış olan en az iki kan kültüründen soyutlanmalı ve mikroorganizmalar vücudun bir başka bölgesinde enfeksiyon etkeni olmamalı, bakteri tek bir kan kültüründen izole edilmiş olmasına karşın hastada intravasküler bir aletin kullanımı söz konusu olmalı ve klinisyenin mevcut tablo için antibiyotik kullanmak ihtiyacı hissetmesi gerekmektedir. Deride kolonize olabilen birçok bakteri kültürde kontaminasyon ya da gerçek etken olarak karşımıza çıkabilir. Deri ve çevreden en sık bulaşabilen mikroorganizmalar; koagülaz negatif stafilocoklar; difteroidler; *Bacillus* spp., *Propionibacterium* spp., ve *Micrococcus* türleridir.(14)

2.3.2. Sekonder bakteriyemi

Vücudun herhangi bir anatomik yerindeki enfeksiyon odağından kaynaklanan bakteriyemilerdir. Laboratuvar olarak, enfeksiyon odağından alınan kültürde ve kan kültürlerinde aynı bakterinin izole edilmesi ile tanı konur. Damariçi kateter yerinde pürülan tromboflebit olması ya da kızarıklık, hassasiyet, pürülan akıntı ile karakterize lokal kateter enfeksiyonları sonucunda gelişen bakteriyemiler sekonder bakteriyemi olarak değerlendirilmektedir.(14)

2.5.2.1. İntravasküler Kateter ile ilişkili Bakteriyemi

Özellikle YBÜ'lerinde hemodinamik monitörizasyon ve intravenöz tedavi gereksinimi nedeniyle sıklıkla santral venöz kateterler kullanılmaktadır. Bu kateterlerin kullanımı ile ilişkili bakteriyemiler YBÜ hastalarında yaygın olup, mortalite ve morbidite ile yakından ilişkilidir.(14)

2.4. Epidemiyoloji

Sepsis ve/veya bakteriyemi insidansını bilmek tam olarak mümkün değildir. ABD'de yılda 70.000-300.000 sepsis olgusu görüldüğü ve 30.000-100.000 olgunun sepsis nedeniyle kaybedildiği belirtilmektedir. Bir eğitim hastanesinde yapılan çalışmada, hastaneye yatırılan her 1000 hastanın 13.6'sında sepsis sendromu gözlenmiştir (6). Ülkemizde 1983-1989 yılları arasındaki yapılan, sadece Gram negatif bakteriyemilerin

değerlendirildiği bir çalışmada insidansı 4.2/1000 ve mortalitesi % 45 olarak bildirilmiştir (15).

Hastane dışında gelişen sepsislerde etkenler için en sık giriş kapısı deri, yumuşak doku ve solunum yollarıdır. *E. coli* sepsisi ise en sık üriner sistem enfeksiyonlarından kaynaklanmaktadır (16). Hastane kaynaklı sepsisler gittikçe artan sıklıkta görülmektedir. Toplumda ileri yaş grubunun artması, kronik hastalığı olan hastaların yaşam sürelerinin uzaması, immunosupressif ajanların kullanılması, tanı veya tedavi amacıyla invazif tekniklerin yaygın kullanılması sepsis görülme sıklığını artırmaktadır. Nozokomiyal sepsisin görülme sıklığı hastaneden hastaneye değişmektedir. Yatak kapasitesi fazla olan ve invazif girişimlerin yaygın uygulandığı hastanelerde daha sık görülmektedir.

2.5. Patogenez ve Patoloji

Sepsis patogenezi karmaşık bir olaydır. Bakterinin organizmaya yerleşmesi, konak defansı ile etkileşimi sonucu hastalık ortaya çıkar. Hastalığın ortaya çıkışını, konağın immün sistemi ve bakteriyel virulans faktörleri belirler. Sepsis için predispozan faktörler Tablo 2’de özetlenmiştir (6).

Tablo 2. Sepsis oluşumunda predispoze faktörler

Konağa Ait Faktörler	Terapötik Faktörler
❖ Altta yatan ölümcül hastalık ❖ Yaş (yenidoğan, >65 yaş) ❖ Primer hastalık (siroz, DM¹, KBY², KKY³, vb.) ❖ Konak savunma mekanizmalarının zayıflaması (nötropeni, malignite, disproteinemiler, kortikosteroid ve diğer immunosupressif tedaviler) ❖ Geniş travma ve yanıklar ❖ Lokal enfeksiyonlar ❖ Septik abortus, lohusalık ❖ Yakın geçmişte uygun olmayan antibiyoterpi	❖ YBÜ’nde bakım ❖ İnvaziv damar kateterleri ❖ Fazla miktarda parenteral mayi veya kan ve kan ürünleri verilmesi ❖ Hemodiyaliz ❖ Diğer invaziv kateter ve enstrümantasyonlar (üriner kateter ve enstrümantasyon, entübasyon, endotrakeal tüp, mekanik ventilatör) ❖ Büyük cerrahi girişimler

¹Diabetes mellitus, ²kronik böbrek yetmezliği, ³konjestif kalp yetmezliği

2.5.1. Konağa ait faktörler ve enfeksiyonun giriş kapısı: Sepsise neden olan bakteriler dolaşıma genellikle damar dışı bir enfeksiyon odağından yayılım sonucu girer. Bazen de enfeksiyon damar içi kateter, septik tromboflebit, bakteriyel endarterit, endokardit, mikotik anevrizmalar ve damar greftlerinden kaynaklanabilir (17). Sepsislerde en sık primer enfeksiyon odağını; üriner sistem, genital sistem, solunum sistemi, deri ve yumuşak doku, karın içi ve damar içi kateterler oluşturur.

Primer enfeksiyon odağının diğer anatomik yerlerde yerleşmesi daha az orandadır. Hastane dışında gelişen sepsislerde en sık giriş kapısını solunum sistemi ve üriner sistem oluşturur iken, nozokomiyal sepsislerde ise damar içi kateter ve üriner kateter enfeksiyonları oluşturmaktadır. YBÜ’lerde ise nozokomiyal pnömoniler ön plana çıkmaktadır (17, 18).

Enfeksiyona karşı konağı koruyan savunma mekanizmalarının bozulması, lokal veya sistemik enfeksiyonlara zemin hazırlar. Konak savunma mekanizmalarını üç kategoride toplayabiliriz; anatomik bariyer, hücresel defans (fagositik hücreler, lenfositler), spesifik ve nonspesifik humoral defans (17).

Bakteriyel enfeksiyonlara karşı organizmayı koruyan en önemli savunma sistemi anatomik bariyerdir. Sağlam deri ve mukozalar mikroorganizmaların daha derin dokuya girmelerini engeller. Travma, yanık veya perkütan damar içi kateterler bu bariyeri kırar. Gastrointestinal mukoza ve diğer mukozalar sitotoksik ilaçlar ve radyasyon tedavisinden zarar görürler. Diğer önemli bir savunma mekanizması ise vücut sekresyonları ve bunların salgılandıkları alanda sirküle olmalarıdır. Sirkülasyondaki bozulma, o anatomik bölgede doku basıncının artmasına, kan akımının azalmasına ve bakteriyel proliferasyona neden olur. Safra yolları enfeksiyonları, postobstrüktif pnömoniler ve bazı üriner sistem enfeksiyonları buna örnek gösterilebilir. (17,18)

S. pneumoniae, *H. influenza*, *Neisseria meningitidis* ve *S. aureus* genellikle belirlenebilen herhangi bir fokal enfeksiyon odağı olmadan bakteriyemi yapabilir. Gram negatif basiller ise, kronik hastalık varlığı, uzun süre YBÜ’ünde kalma, invaziv girişimler, hemodiyaliz uygulanması başta olmak üzere predispozan faktörlerden biri olmadan nadiren bakteriyemiye neden olurlar (17, 18).

2.5.2. Mikrobiyal faktörler: Sepsis etkeni olan bakterilerin çoğunluğu endojen floradan kaynaklanmaktadır. Enfeksiyonun gelişmesinde bakteriyel virulans faktörleri (adherans, seruma direnç, antifagositik yüzey, hücre içinde canlılığını koruma, enzim ve toksinler gibi) önemli rol oynar.

Sepsis ve onun sonucu olarak gelişen klinik tabloların oluşmasında, bakteriyel invazyon ile beraber bakteriyel hücresel yapıların ve toksinlerin de önemli rolü vardır. Bu hücresel yapılar ve toksinler organizmada değişik biyolojik sistemleri aktive eder. Sepsisteki fizyopatolojik değişikliklerden sorumlu endojen mediyatörlerin açığa çıkmasını sağlar (19, 20). Endojen mediyatörlerde septik şok tablosunun oluşmasına neden olur. Septik şok oluşumunda bakterilere ait belli başlı yapılar Tablo 3’de gösterilmiştir (21).

Tablo 3. Septik Şok Patogenezinde Rol Oynayan Bakteriyel Yapılar

Bakteriyel yapı	Kaynak	Örnek
• Endotoksin (LPS, lipid A) • Menengokoksemi • Peptidoglikan • Lipoteikoik asit • Ekzotoksinler • Süperantijenler ○ Toksik sok sendromu toksini-1 ○ Enterotoksin A-F ○ Pirojenik ekzotoksin A+C, • Enzimler ○ Streptokokal pirojenik ekzotoksin ○ Fosfalipaz C	Bütün gram negatif bakteri Bütün bakteriler Gram pozitif bakteri <i>S. aureus</i>, <i>S. pyogenes</i> <i>S. aureus</i>, <i>S. pyogenes</i> <i>S. pyogenes</i> <i>Clostridium perfringens</i>	<i>E.coli</i> sepsisi

Çeşitli bakteriyel komponentler (kapsül polisakkaridleri, peptidoglikan yapı, lipoteikoik asit, protein A ve endotoksin) in vitro kompleman komponentlerini ve koagülasyon sistemlerini aktive eder (20-22). Etkisi en iyi bilinen bakteriyel yapı Gram negatif bakterilerin hücre duvarında yer alan lipopolisakkarid yapısındaki endotoksinlerdir. Lipopolisakkarid yapısında yer alan lipid A yapısı, bütün Gram negatif bakterilerde ortak olup, endotoksemiden sorumludur (19, 23). Endotoksin, toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1), pirojenik ekzotoksin A, Gram pozitif bakteri veya mantar hücre duvarı yapıları, mantar antijenleri de sepsis kaskadını başlatabilir (24-26).

2.6. Fizyopatoloji

2.6.1. Normal konağın enfeksiyona cevabı

Bakteri epitel bariyerini geçtikten ve dokuya ulaştıktan sonra, doku makrofajları, mast hücreleri ve dendritik hücreler ile karşılaşır. Bu hücrelerden lokal enflamatuvar cevabı oluşturacak olan mediyatörler salınır. Bu mediyatörler lokal enflamasyon, kapiller geçirgenlikte ve kan akımında artış, nötrofil infiltrasyonu ve ağrıya neden olur. Ek olarak, aktive makrofajlar ve endotel hücrelerinden eksprese edilen doku faktörünün başlattığı fibrin birikimi, enfekte dokuyu sınırlamakta ve kan dolaşımı invazyonu önemli ölçüde engellenmiş olmaktadır. Kan dolaşımındaki nötrofiller ise fagositozda rol almaktadır.(27,28)

Vücudun enfeksiyona karşı sistemik cevabı genellikle kan dolaşımındaki enflamasyonu baskılamaktadır. Sistemik cevap başlıca beyin ve karaciğerden kontrol edilmektedir.

2.6.1.1. Sistemik cevabın santral sinir sisteminden kontrolü

Santral sinir sistemi (SSS)'ne mikrobiyal invazyon ile ilgili bilgiler iki yolla gelmektedir. Öncelikle enfekte veya enflame dokulardan uyarılar hipotalamus ve beyin sapına, iletilir ve hipotalamik-pituiter-adrenal (HPA) aks, otonomik sinir sistemi ve hipotalamik termoreglatuvar merkez uyarılır. İkinci olarak kan dolaşımındaki mediyatörler (IL-1, TME, IL-6, interferonlar, prostaglandin E2) kan beyin bariyerini geçerler. SSS'nin üç majör efferent yolu (HPA, sempatik ve parasempatik sinir sistemi) kan dolaşımındaki enflamasyonu inhibe eder ve termoreglatuvar merkez vücut ısını artırarak antimikrobiyal aktiviteyi sağlar (27, 28).

2.6.1.2. Sistemik cevapta karaciğer ve dalağın rolü

Karaciğer anatomik olarak, bağırsak mukozasından translokasyona uğrayıp portal dolaşıma giren mikroorganizmaların uzaklaştırılacağı bölgede yerleşmiştir. Dalak ise esas olarak opsonize olan mikroorganizmaları filtre etmektedir. Dolaşımdaki TNF, IL-1, IL-6 ve diğer sitokinler hepatositlerin enfeksiyona karşı akut faz ve metabolik cevabını indüklemektedir. Karaciğer aynı zamanda SSS'e mikrobiyal invazyon ile ilgili uyarıların gitmesinde de rol oynar. Dolayısıyla karaciğer doğal immünitede anahtar rolü oynamaktadır.(27,28)

2.6.1.3. Akut faz cevabı

İnfeksiyon ve diğer streslere akut sistemik cevabın beş kategoride incelenebilir; anti-enfektif cevap, anti-enflamatuvar cevap, metabolik cevap, prokoagulan cevap ve termoregülasyon. Bunlar, aslında septik şok tablosunun oluşumunun basamaklarıdır.

Anti-enfektif cevap: Akut lökositöz, epinefrin, kortizol, IL-10 ve diğer mediyatörler aracılığı ile olmaktadır. Kemik iliğindeki nötrofillerin salınmasında granulosit koloni stimule edici faktör (GSF) ve diğer sitokinler rol oynamaktadır. Dolaşan nötrofiller enfeksiyon bölgesine giderler ve enflamasyonun aktive ettiği endotele tutunurlar. Daha sonra enfekte doku içine girerler.(27,28)

Anti-enflamatuvar cevap: Nötrofilleri indükleyen mekanizma, inflame olmayan damar endoteline yapışmalarını inhibe eder. Böylelikle nötrofillerin enfekte olmayan dokularda gereksiz birikmesini önlerler. Enflamasyonu önleyen diğer cevaplar sitokin antagonist (IL-IRa, soluble TNF reseptörleri) düzeylerinin kanda artması, diğer anti-enflamatuvar mediyatörler (epinefrin, kortizol, MSH, adrenokortikotropik hormon, IL-4, 6, 10, 13, transforming growth faktor-3, CRP), proteaz inhibitörleri ve antioksidanlardır (27, 28).

Metabolik cevap: Stres durumunda pekçok mekanizma kan şekeri düzeyinin kontrolünü sağlar. Epinefrin, kortizol ve diğer karşıt düzenleyici hormonlar pankreas beta hücrelerinden insülin salımını artırır ve karaciğerde glikogenoliz ve glukoneogenezi uyarır. insülin direnci kaslardan glukoz alımını azaltır ve kas katabolizmasına neden olur. Bu karşıt düzenleyici hormonlar aynı zamanda lipolizi (dolayısıyla kanda serbest yağ asid ve gliserol düzeyleri artar) ve kas proteolizini indükler. Adipositlerde gelişen lipoliz hormon duyarlı lipazın aktivasyonu ile olmaktadır; lipoprotein lipaz inhibe olur. Dolaşımda trigliserid düzeyleri artar. Kas proteolizi sonucu aminoasidler salınır ve bunlar hepatik glukoneogenezde ve akut faz proteinlerinin oluşturulmasında kullanılır.(27,28)

Prokoagulan cevap: Enflamasyon ve koagülasyon birbiriyle yakın ilişkidir. Enflamasyonun indüklediği prokoagulan cevap apse oluşumuna ve gecikmiş hipersensitivite reaksiyonuna neden olur. Enflamasyonun indüklediği monosit ve endotel hücrelerinin yüzeyinden, doku faktör salınımı trombin, yani faktör VIIa ve Xa, oluşumunu başlatır. Bunun yanında fibrinolizi inhibe eden plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI) üretimi artar.(27,28)

Son yıllarda endotel hücre yüzey proteini olan protein C'ye ilgi artmıştır. Protein C trombin trombomine bağlanınca aktive olur. Aktive protein C, reseptörü olan endotel protein C reseptörü (EPCR)'nden ayrılır ve protein S'ye bağlanır. Bu bağlanma sonucu oluşan kompleks, faktör Va ve VIIIa'yı inaktive eder. Böylelikle trombin aktivasyonu bloke edilmiş olur. Akut faz cevabı sırasında protein C ve antitrombin III serum albumin konsantrasyonu ile paralel düşer. Bu antikoagülanlar aynı zamanda negatif akut faz reaktanıdır. Üçüncü doğal antikoagülan olan protein S, dolaşımda bulunan ve pozitif akut faz reaktanı olan C4b'ye bağlanır ve seviyesi düşer. Paradoks olarak düşük düzeylerde trombin protein C'yi aktive ederek pıhtılaşmayı inhibe eder (27, 28).

Termoreglatuvar cevap: TNF, IL-6 ve diğer pirojenler ateş olmadığı dönemlerde de kanda bulunmaktadır. Enfeksiyon ile ilgili termogenez lokal enflamasyon ile termoregulator merkeze uyarıların taşındığı nöral afferentlerin uyarılması ile indüklenmektedir. Vücut ısısını artıran fizyolojik cevap ise titremeler ve periferik vazokonstriksiyon ile kan akımının ekstremitelerden iç organlara doğru olmasıdır.

Vücut ısısındaki artışın konağa pekçok faydaları vardır. Bakteri üremesini inhibe ederken nötrofil ve makrofajların bakterisidal aktivitesini artırmaktadır. Ayrıca termogenez sırasında kan akımının iç organlarda artması enfekte dokunun kanlanması da artırmaktadır (27, 28).

2.6.2. Enfeksiyona patolojik: konak cevabı

2.6.2.1. Mikrosirküler disfonksiyon: Ağır sepsisteki hastalarda perfüze olan küçük damarların oranı azalmıştır. Mikrosirkülasyondaki değişiklikten eritrosit ve aktive nötrofillerin permeabilitesinin azalması, nötrofil agregasyonu ve mikrotromboz sorumludur.(28)

2.6.2.2. Damar endotelinde aktivasyon ve hasarlanma: Ağır sepsis ve septik şokta diffüz endotel hasarı esastır. Damar endoteli sepsis patofizyolojisinde üç olayda rol almaktadır; damar tonusu, damar geçirgenliği ve koagülasyon. Endotel aktivasyonu veya hasarlanması kan basıncı, sıvı kaçıışı ve koagülasyonda gözlenen anormalliklere neden olur. Ağır sepsiste kapiller geçirgenlikte artış organ disfonksiyonuna neden olur. Bu, özellikle akut akciğer hasarı veya periferik ödemde gözlenmektedir. Dokulardaki endotel hücre yapısı ve fonksiyonları birbirinden farklılık göstermektedir. Bundan dolayı deri, iskelet kası, dil gibi kolay incelenebilen dokular ağır sepsiste önemli ölçüde etkilenen akciğer, böbrek, karaciğer ve beyin dokularındaki değişiklikleri yansıtmaz (28).

2.6.2.3. Sitokinler ve mediyatörler

Bakteri hücre duvarında yer alan birçok antijenik yapılar ve toksinler, dolaşımdaki mononükleer fagositler, endotel hücreleri ve diğer hücrelerden birçok güçlü mediyatörlerin salınımını başlatırlar. Bunların en önemlileri; TNF- α , IL-1, 2, 6, 8 ve trombosit aktive eden faktör (PAF)'dür.(22)

Sepsiste araşidonik asit metabolitleri de önemli rol oynar. Siklooksijenaz yolla prostoglandinler ve tromboksan A2, lipooksijenaz yolla ise lökotrienler açığa çıkar. Endotoksin, TNF ve IL-1-gibi mediyatörler araşidonik asit metabolitlerinin açığa çıkmasını ve sentezini aktive eder. Tromboksan A2 kuvvetli vazokonstriktör ve prostoglandinler ise vazodilatör etkiye sahiptir. Araşidonik asit metabolitleri, ateş, taşikardi, takipne, ventilasyon perfüzyon bozukluğu ve laktik asidoz oluşumunda rol alırlar. IL-1 ve IL-6, T hücrelerini aktive eder. Gama interferon, IL-2, IL-4 ve granülosit monosit koloni stimule eden faktör (GM-CSF) oluşur. Bu esnada koagülasyon kaskadı ve kompleman sistemi de aktive olur (22, 24, 28).

Enfeksiyona sistemik cevap bu salınan mediyatörler tarafından oluşturulur. Bu mediyatörlerin bir kısmı proenflamatuvar (TNF, IL-1, IL-8) ve bir kısmı ise antienflamatuvar (IL-4, IL-10) özelliğe sahiptir. Sepsis patogenezinde rol oynadığı bilinen proenflamatuvar, antienflamatuvar sitokinler ve diğer moleküller Tablo 5'de görülmektedir. Normalde sitokin cevabı belli bir düzen içerisinde düzenlenir. Bu düzenin bozulmasını proenflamatuvar reaksiyon veya kompensatuvar anti-enflamatuvar reaksiyon takip eder. Bu reaksiyonların sonucu olarak da sepsis klinik tablosu ortaya çıkar (22, 24, 27).

2.7. Tanı

Hastalardan dikkatli hikaye alınması, klinik belirti ve bulguların iyi değerlendirilmesi, sepsisin erken tanısını koydurur. Özellikle sepsise zemin hazırlayan alt hastalıkların veya predispozan faktörlerin; cerrahi girişim, transplantasyon, kemoterapi veya travma gibi durumların belirlenmesi, hastaların değerlendirilmesinde önemlidir. Hastaların seyahat hikayeleri, herhangi bir çevresel enfeksiyon kaynağı ile temas, belli bir enfeksiyon hastalığı olasılığı açısından ipucu verir. Hastaların fizik muayeneleri titiz yapılmalı, semptom ve bulgular çok iyi değerlendirilmeli, klinik tanı laboratuvar bulguları ile desteklenmelidir. Gram negatif, Gram pozitif ya da funguslarla oluşan

enfeksiyonlarda klinik tablo aynıdır. Özellikle deride saptanabilecek bazı bulgular etkenin belirlenmesinde önemli olabilir. Meningokokseminde makül, peteşi, purpuralar, gonokokseminde ellerde peteşi, püstül ve papüller ile poliartrit, *S. aureus* enfeksiyonlarında septik emboliler, *P. aeruginosa* sepsislerinde ektima gangrenosum izlenebilir. Özellikle immunsupresif konakta *Candida*, *Trichosporon* sepsislerinde deride kırmızı-pembe nodüller, fırsatçı küf sepsislerinde (*Fusarium*, *Aspergillus*,...) nekrotik odaklar izlenebilir (29).

Bakteriyemi tanısında etkenin gösterilmesine yönelik direk tanı testleri veya klinik tablonun seyriyle ilgili çeşitli immünolojik proteinlerin gösterilmesine yönelik spesifik olmayan 2 farklı test kullanılmaktadır.

1. Non-spesifik testler; biyokimyasal testler, lökosit, CRP, prokalsitonin, kan gazı, endotoksin seviyesi.....

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

2.7.1. Non-Spesifik Testler

2.7.1.1. Tam kan sayımı, koagülasyon testleri

Sepsiste klinik evrelere göre farklı laboratuvar bulguları gözlenir. Hematolojik bulgular; genellikle lökositoz ve sola kayma görülür. Lökosit sayısı $12.000/\text{mm}^3$ üstündedir. Bazen lökomoid reaksiyon görülebilir ve lökosit sayısı 50-100 bin/ mm^3 kadar ulaşır. Lökosit sayısı $4.000/\text{mm}^3$ altına inen lökopeni durumları da görülebilir. Özellikle yenidoğanlarda, yaşlılarda, alkoliklerde ve diğer kemik iliği rezervi yeterli olmayan hastalarda lökopeni görülür. (30)

Periferik yaymada, nötrofillerde toksik granülasyon, Dohle cisimleri ve vakuolizasyon görülür. Toksik granülasyon ve Dohle cisimleri bakteriyemi için spesifik kabul edilmemekte, fakat vakuolizasyon bakteriyeminin önemli işareti kabul edilmektedir. Sepsiste eritrosit yapımı azalır, eğer enfeksiyon uzamaz ise bu anemiye neden olmaz. Serum demiri de azalır. (30)

DİK gelişen hastalarda, laboratuvar tanıda kullanılabilecek spesifik bir test yoktur. Tanıda birden çok testten yararlanılır. Trombosit sayısında hızlı düşüş veya $100.000/\text{mm}^3$ altında olması, protrombin zamanı ve aktive parsiyel tromboplastin zamanında uzama, plazma fibrin yıkım ürünlerinde artış ve koagülasyon inhibitörlerinin (antitrombin III ve protein C) plazma seviyelerinin azalmasının gösterilmesi DİK tanısını koydurur. Plazma fibrinojen seviyesi, sepsisin erken döneminde normal sınırlarda olabilir, çünkü bu

protein akut faz reaktanıdır. Ağır sepsislerde hipofibrinojenemi gelişir. DİK gelişen hastaların periferik kan yaymasında, eritrositlerde parçalanma görülür (30).

2.7.1.2. Biyokimyasal testler

Kan gazları, sepsis takibinde önemlidir. Erken dönemde respiratuvar alkaloz, daha sonra metabolik asidoz gelişir. Kan üre nitrojeni (BUN) ve kreatinin seviyesi, şok varlığında veya olmadan da artabilir. Şok durumunda azotemi ve oligüri genellikle akut tübüler nekroz sonucu gelişir. İdrar sedimentinde fazla miktarda tübüler epitel ve granüler silindirler görülür. Hepatobiliyer sistem tutulumu olmadan da sepsisli hastalarda karaciğer fonksiyon testleri bozulabilir. Özellikle direkt bilirubin artışı ile beraber hiperbilirubinemi, alkalen fosfataz ve transaminaz seviyelerinde orta derecede artış görülür (30-32).

Sepsis tanısında kullanılan biyokimyasal testlerden özellikle ikisi (CRP ve prokalsitonin) rutinde sık kullanılan ve duyarlı testler olarak kabul edilmektedir.

2.7.1.3. CRP

CRP ile ilgili bilgiler 1930 yıllarına dayanmaktadır. 1930 yılında Tillet ve Francis adlı iki araştırmacının *S. pneumoniae*'nin C polisakkaridine bağlanarak aglütinasyon yapan bir "etmen" saptadıkları ve buna C-Reaktif protein (CRP) adını verdikleri bildirilmektedir. Öncelikle yalnızca pnömokok enfeksiyonu olanlarda bulunduğu düşünülen bu etmenin daha sonraları pnömokok enfeksiyonuna özgül olmadığı, diğer akut faz proteinleri gibi kanda az miktarda bulunduğu ve enfeksiyon ve inflamasyonla düzeyinin hızla arttığı gösterilmiştir (33, 34). CRP; karaciğerden sentezlenen ve birbirine özdeş ve nonkovalan bağla bağlanmış beş alt birimden oluşan 11.800 dalton ağırlığında bir proteindir (33). İnsan CRP'sinin alt birimi 206 aminoasitten oluşan bir yapıdır. Enfeksiyon ve inflamasyonda CRP üretimi IL-6, IL-1 ve TNF- α gibi birtakım sitokinlerce uyarılır. Bu uyarı ile komplemen aktivasyonu ve fagositik hücre fonksiyonlarının düzenlenmesi sağlanır (33, 34). CRP'nin enfeksiyona özgü olmayan bir gösterge olmasına karşın bakteriyel enfeksiyonlarda en yüksek seviyeye ulaşması, kronik inflamatuvar olayların akut alevlenmelerinde yükselmesi geniş kullanım alanı sağlamaktadır. İnflamasyon ve doku hasarının çözünmesini izleyerek CRP düzeylerinin hızla düşmesi bakteriyel enfeksiyonlarda CRP'nin sağaltıma yanıtı değerlendirmede kullanımını da gündeme getirmiştir (34). CRP düzeyinin ölçümü bakteriyel enfeksiyonların saptamasının önem taşıdığı yenidoğan dönemi, nötropenik hastalar,

kemik iliği transplantasyonu ve sepsiste özellikle önemlidir. CRP'nin neonatal sepsiste kullanımıyla ilgili olarak, başarılı bulan çalışmalar yanı sıra erken tanıda yeterli olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (34, 35). CRP'nin kullanımını sınırlayan başlıca dezavantajı enfeksiyona özgül olmaması, enfeksiyöz dışı nedenlerle de yükselebilmesidir (35, 36).

2.7.1.4. Prokalsitonin

Prokalsitonin (PCT), kalsitonin öncül hormonudur. Enfeksiyonlar sırasında PCT'deki artış tesadüfen keşfedilmiştir ve bu keşif PCT'nin bakteriyel enfeksiyonların bir belirtici olarak kullanılmasına yol açmıştır (37).

1980'li yılların sonlarında tiroid kanserleri ve bazı akciğer karsinomalarında kalsitonin gibi PCT'nin de arttığı gösterilmiştir. Yine aynı yıllarda ciddi enfeksiyonu olan hastalarda immunoreaktif kalsitonin değerlerinin yüksek olduğu belirlenmiştir (37).

PCT düzeylerinin ağır sepsis, septik şok gibi durumlarda çok fazla yükseldiği sonraki yıllarda doğrulanmıştır. Buna karşın viral enfeksiyonlar, alerjik reaksiyonlar, otoimmün hastalıklar, neoplastik hastalıklar, hafif cerrahi işlemler gibi bakteriyel olmayan sistemik inflamasyonlarda ve lokal bakteriyel enfeksiyonlarda PCT artışının anlamlı olmadığı bulunmuştur. Ayrıca bakteriyel endotoksinler ve proinflamatuvar sitokinlerle ve travma veya kardiyojenik şok gibi olaylar sonucunda da PCT üretiminin uyarıldığı klinik ve deneysel araştırmalarla kanıtlanmıştır (38).

Normal metabolik durumda hormonal olarak aktif kalsitonin, tiroid bezinin C hücreleri tarafından PCT'nin intrasellüler olarak proteolitik işlemde geçirilmesi sonrasında üretilir ve salgılanır (38, 39). Ciddi bakteriyel enfeksiyonlarda plazma kalsitonini anlamlı düzeyde değişmezken, PCT plazma konsantrasyonları yüksek bulunmuştur (37, 38). Bakteriyel enfeksiyonlarda artmış olarak üretilen PCT'nin kaynağının tiroid bezinin C hücreleri olmadığı düşünülmüş, tiroidektomi uygulanan hastalarda yüksek PCT seviyelerinin saptanmasında bu görüşün doğruluğunu kanıtlamıştır (37-39). Daha sonra inflamatuvar nedeni PCT'nin akciğer, karaciğer, bağırsaklar ve pankreasta bulunan nöroendokrin hücrelerden salındığı bulunmuştur (38, 40, 41). Dolaşımdaki kan hücrelerince salınmadığı da saptanmıştır (42).

Prokalsitonin üretimi bakteriyel endotoksinler, ekzotoksinler ve bazı sitokinler tarafından uyarılabilmektedir. Deneysel koşullarda bakteriyel endotoksinler ve TNF- α , en güçlü PCT indükleyicileridir (38, 41). Sağlıklı gönüllülerde yapılan intravenöz

bakteri endotoksin injeksiyonundan 2-4 saat sonra plazmada PCT artışı saptanmış, 24-48 saat sonra yüksek olarak kalarak iki gün sonra bazal seviyesine indiği gösterilmiştir (38, 43). PCT nin 0.5 ng/ml'nin üstündeki tüm değerleri patolojik kabul edilmektedir (38). paraziter olmayan hastalıklarda PCT değerleri genellikle <2 ng/ml olarak bulunur. Ciddi bakteriyel enfeksiyonlarda ve sepsiste PCT plazma konsantrasyonları 1 ng/ml'den 1000 ng/ml'ye kadar değişen düzeylerde saptanmıştır (38).

2.7.2. Spesifik Tanı Yöntemleri

Sepsis tanısında enfeksiyon kaynağını oluşturan odak belirlenmeye çalışılmalıdır. Odağı belirlemek yönünden sistemik muayene en temel yol göstericidir. Bu inceleme sürecinde cerrahi ve diğer yaralar (dekübit) mutlaka gözden geçirilmeli, kateter giriş yeri ve ekstremiteler incelenmeli ve flebit, selülit gibi enfeksiyonlar saptanmalıdır. Sinüzit akla gelmeli, göz dibi özellikle kandida sepsisi sürecinde saptanan endoftalmi yönünden değerlendirilmelidir. İshal varlığında *Clostridium difficile*, pürülan idrar varlığında üriner enfeksiyon akla getirilmelidir. Tüm bu değerlendirmeler tamamlandıktan sonra mutlaka kan kültürü ile beraber odak olarak belirlenen bölgelerden de kültür alınarak incelenmelidir. Enfektif bölgeler saptanarak bakteriyemi kaynağı olup olmadıklarının saptanması tedaviye yanıt ve prognozla yakinen ilgilidir (44, 45).

2.7.2.1. Kan kültürü

Sepsis şüphesi olan her hastada kan kültürü alınmalıdır. Kan kültürü, sepsis ve bakteremilere yol açan mikroorganizmaların izole edilmesi amacıyla kullanılan önemli bir tanı yöntemidir (46). Çoğu zaman pozitif bir kan kültürü sonucu, klinisyeni doğrudan tanıya yönlerebilmektedir (47). Kan kültürü alınırken uygulanacak temel prensipler testin değerini artıracaktır.

Kan kültürü alırken; doğru yerden, doğru zamanda, doğru teknikle, yeterli miktarda örnek alınmalı, laboratuvara doğru koşullarda ulaştırılmalıdır.

Kan kültürü almak için endikasyonlar çeşitlidir ve standardize edilmemiştir. Ateş kan kültürü alınmasının en sık nedenidir. Ayrıca üşüme, taşikardi, taşipne gibi kanda mikroorganizma varlığını düşündüren klinik durumlarda, infeksiyöz olmayan nedenlerle açıklanamayan ateş ve hipotansiyon olduğunda ve nötropeni sırasında ateş ortaya çıkarsa kan kültürü alınmaktadır. Deneysel çalışmalarda kanda en fazla mikroorganizma sayısının ateş veya üşüme titremelerin başlamasından 1-2 saat önce olduğu

bulunmuştur. Bu nedenle ateş pikinden 1.5 saat önce kan kültürü alınması idealdir. Bununla birlikte ateş piki tahmin edilemediğinden semptomlar başlar başlamaz (ateş, üşüme vb) kan kültürleri alınabilir. Ateş yokluğunda; lokal enfeksiyonu olan hastalardan (pnömoni, menenjit, osteomyelit gibi), böbrek yetmezliği ve açıklanamayan lökositozu olan hastalardan, immün sistemi bozulmuş veya yoğun bakım altındaki hastada açıklanamayan pulmoner, renal veya hepatik fonksiyon bozukluğu, açıklanamayan hemodinamik bozuklukları olan hastalardan kan kültürü alınabilir (48, 49).

Kan kültürü için örnek alınırken en sık antekubital venler kullanılır. Eğer hastada intravenöz kateter varsa antekubital vene ek olarak kateterden de kan kültürü alınır. Bu daha çok kateter ilişkili bakteriyemi varlığının araştırılmasında başvurulacak bir yoldur.

Kan kültürlerinde cilt flora bakterilerinin bakteriyemi etkeni olarak karşımıza çıkması nedeniyle ciltten ya da ortamdaki kontaminasyonun engellenmesi için alım tekniği çok önemlidir. Kanı alacak kişi kendini kanla bulaşan enfeksiyonlardan korumak için eldiven giymelidir. Önce kanın alınacağı bölge % 70'lik etil veya isopropil alkol ile silindikten sonra 30 saniye beklenir. Daha sonra tercihen iyot ile silinerek bir dakika beklenir. Silme işlemleri merkezden çevreye doğru yuvarlaklar çizerek yapılır. Daha sonra kapalı sistem vakum iğnesi veya enjektör yardımıyla kan alınır. Damar üzeri ve çevresi silindikten sonra tekrar palpe edilmez. Palpe edilecekse bile parmak uçları tekrar dezenfektanlarla silinmiş olmalıdır. Kan kültürü şişeleri hasta başında hazır olmalıdır. Hangi şişe cinsi uygunsa o kullanılır. (48,49)

Hastadan kan alındıktan sonra kültür şişesine konmadan önce kimi araştırmacılar iğne değiştirme (Switch Needle Tekniği) yapılmasının kontaminasyon olasılığını azaltacağını bildirmektedir. Bu tekniğin kontaminasyon oranlarını düşürdüğünü gösteren bazı çalışmalara karşın, azaltmadığını bildiren çalışmalar da vardır. Bu nedenle genellikle iğne değiştirilmeden şişeye inokülasyon yapılmaktadır. Ayrıca iğnenin değiştirilmemesi kan alan kişiye iğne batması riskini de azaltmaktadır (48).

Kan, şişelerin içine konmadan şişelerin ağzı alkol ile silinmelidir. Ticari şişelerin üzerinde aerobik, anaerobik, mantar, erişkin veya pediatrik olduğuna dair, kullanıcının kişiye ve olası etkene göre kullanabileceği notlar bulunur. (48)

Üremeyi etkileyen en önemli faktörlerden bir tanesi de alınan kan miktarıdır. Kanın içerisinde bazı inhibitör maddeler vardır bu yüzden besiyeri kan oranı önemlidir. Kan kültürü şişelerinde 1:4 veya 1:10 oranında kan besiyeri oranı kabul edilebilir oranlardır.

Ticari olarak kullanılan şişelerde her şişe başına alınacak miktar optimum 8-10 ml'dir. Her seferde en az iki set (aerobik-anaerobik şişeden oluşan) kan alınmalıdır.

Laboratuvara mümkün olduğunca bekletilmeden (beklemesi için gerekli süre oda ısısında geçirilmelidir) ulaştırılması gereken kan kültürü şişeleri mevcut sistemlerin özelliklerine göre işleme alınır. Amaç kanda bulunan bakterilerin besiyeri içerisinde inkübatör ısısında üretilmesi ve üreyen bakterinin tespit edilmesidir. Bakteri üretilmesi bakteriyeminin gösterilmesinden başka etkenlerin antibiyotik duyarlılık durumunun tespitini mümkün kılar. Mikrobiyoloji laboratuvarlarının en hızlı ve öncelikli davranması gereken durumlardan bir tanesi kan kültürü üremelerinin tespitidir ve antibiyotik duyarlılık testlerinin doğru olarak uygulanmasıdır. (48,49)

2.7.2.1.A. Kan kültürü için kullanılan yöntemler: Kan kültürü 19.yüzyıldan beri enfeksiyon hastalıklarının tanısında kullanılmıştır. Belli başlı sistemleri 3 başlıkta sıralayabiliriz;

- 1- Manuel (konvansiyonel) sistemler
- 2- Lizis santrifügasyon sistemi
- 3- Otomatize sürekli izlemeli sistemler

Manuel yöntemlerde: laboratuvarlarda hazırlanmış ya da ticari olarak satılan ağzı kapalı, içerisinde tripticase soy, brain-heart infüzyon ve columbia besiyerleri gibi olası etkenlere en kısa sürede ulaşmak amacıyla kullanacak zengin vasatlar içeren şişeler kullanılır. Bazı şişeler hem sıvı hem de katı kısımları içerir (bifazik). Günlük izlemlerle bulanıklık oluşumu, kanın hemolizi, sıvı yada katı besiyerinde üremelerin gözlenmesi gibi üreme izlemi yapılır. Ayrıca kör pasajlar ile üreme takibi yapılabilir.

Ticari olarak satılan bazı şişelerin ağzında günlük inkübasyonları mümkün kılan ek düzenekler veya üreme indiktorü olan ek aparatlar bulunur. İş yoğunluğunun yüksek olduğu laboratuvarlarda tek şişelerin sürekli izlemleri ve pasajları sorun olmaktadır.

Lizis santrifügasyon sistemi: ülkemizde talep olmadığından pek kullanılmamış olan bir sistemdir. Kan kültürlerinin alındığı şişelerde kanın şekilli elemanlarının parçalanmasını sağlayan maddelerle temasını takiben santrifügasyon yapılır ve agar plaklarına ekilir. Mantar ekimlerinde başarılı olduğu tespit edilmiştir. Erken müdahale edilmezse *S. pneumoniae* ve *Haemophilus* türlerini üretmede yetersiz kalmaktadır.

Otomatize sistemler: bilgisayar desteği ile farklı üreme indikatörlerinde meydana gelen değişimlerin izlenmesi esasına dayanır. İnkübatör ve sürekli çalkalama prensibi ile şişeler sürekli takip edilir. Şişe içerisindeki O₂ miktarının azalması veya CO₂ miktarının artmasıyla değişen kolorometrik veya florometrik ölçümler sağlanır. Yakın geçmişe kadar kullanılan radyometrik ölçüm yöntemleri, radyoaktif atıklardan dolayı günümüzde kullanılmamaktadır. Bu sistemlerde sürekli izleme nedeniyle kan kültürlerindeki pozitifliğin daha erken dönemde saptanmaktadır.

Belirli grup mikroorganizmalar için özel şişeler mevcuttur. Anaeroblar, mantarlar, tuberküloz gibi. Ayrıca pediatrik ve erişkin şişeleri vardır. Bazı şişeler antibiyotiklerin absorpsiyonu sağlayan maddeler içermektedir.

Yaygın olarak kullanılan üç çeşit otomatize kan kültürü sistemi vardır. Bunlar, BacT/Alert, BACTEC ve ESP olup, her üçü de ülkemizde pazarlanmaktadır.

Bu sistemlerde üreme tespit edildiği noktada cihaz alarm ile uyarır. Şişelerden laboratuvarın çalışma prensipleri doğrultusunda boyama ve pasajlar yapılır. Bakterilerin tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılık testleri tamamlanır. Otomatize sistemlerin bakterileri üretmekte daha başarılı olduğu ve daha hızlı izolasyon sağladığı belirtilmektedir.

2.7.2.1.B. Alınacak kan kültürü sayısının belirlenmesi

Erişkin hastalar için her septik epizodda iki veya üç ayrı set kan kültürü alınmalıdır. Bu sayı çeşitli faktörlere bağlıdır. Birincisi; bakteriyemi ve fungemi epizodlarının % 95’den fazlası iki veya üç kan kültürü alındığı zaman saptanmaktadır. İkincisi; rutin olarak her septik epizod için birden fazla kan kültürü alınmalı ve yeterli volümde ilave edilmelidir. Üçüncüsü; klinik olarak önemli ve kontaminant mikroorganizmalar arasında ayırım yapmada klinisyene yardım eder (48, 49). Optimal sonuç için iki kan kültür seti arasındaki sürenin 30-60 dakika olması tavsiye edilmektedir (48, 50). Eş zamanlı olarak alınan çok sayıda kan kültürü ile ard arda 24 saatte alınan kan kültürleri arasında organizmanın tesbiti açısından fark olmadığı gösterilmiştir (51). Genelde her bir venöz ponksiyonda en az iki şişeye kan alınması pratiktir. Bir sette bir aerop bir anaerop şişe bulunmaktadır. Bununla birlikte her iki şişenin de aerop olması bir aerop bir anaerop şişeden oluşan setten daha çok önerilmektedir (50). Eğer hasta antibiyotik tedavisi alıyorsa kandaki ilaç konsantrasyonunun en düşük olduğu, bir sonraki dozdan hemen önce alınmasına dikkat edilmelidir. Kan kültür setleri arasındaki zamanlama çok önemlidir. Her septik epizodda rutin olarak üçden fazla kan kültürü alınması

kontaminant ve klinik olarak önemli izolatlar arasında ayrım yapmaya yardım etmemektedir. Bundan dolayı 24 saat içersinde rutin olarak üç kan kültüründen fazla kültür alınması, endokarditler dışında pozitif sonuçlarda anlamlı bir artışa sebep olmamakta, maliyeti, laboratuvarın iş yükünü artırmakta ve nozokomiyal anemiye (flebotominin sebep olduğu) neden olmaktadır (49-52).

2.7.2.1.C. Kan kültürü alma tekniği

Kan kültürlerinde kontaminasyon çok ciddi bir sorundur. Ortalama % 3-5 arasında kontaminasyon oranları bildirilmektedir. Kontaminasyon, etkeni yanlış tanımlamaya yol açabileceği gibi, yanlış bakteriyemi tanısına ve buna bağlı gereksiz antibiyotik kullanımına, yatış süresinde uzamaya ve ciddi maliyet artışına neden olmaktadır (53). Yapılan bir çalışmada hemokültür yanlış pozitiflik oranı ortalama % 6.4 bulunmuş, YBÜ’nde %10 üzerinde bu oranın çıkabildiği, en sık yanlış pozitiflik nedeni bakterinin koagülaz negatif stafilokok olduğu ve çok ciddi laboratuvar maliyetine neden olduğu gösterilmiştir (54). Yeterli volümde kan alınmaması da yalancı negatifliğin en majör nedeni olarak bildirilmektedir(48-50, 55)

Özellikle hastanelerde en sık bakteriyemi kaynağı santral venöz kateterler olmaktadır. Kateter kaynaklı enfeksiyonu tanımlamak için çeşitli metodlar kullanılmıştır. Kateter ve periferden kantitatif kan kültürü yapmak, giriş yerinden sürüntü/apse örneği kültürü, çıkarılan kateterin boyanarak incelenmesi, kateter içinden fırçalama yöntemi ile örnek alarak çalışılması kullanılabilecek bazı yöntemlerdir. Fakat günümüzde en sık çıkarılan kateter segmentinin petri plağındaki besiyerinde 4-5 kez yuvarlanması sonrasında saptanan koloni sayısı (15 ve daha fazla koloni anlamlı) ile tanı konulmasını öneren Maki yöntemi ve lümen içinden sıvı geçirerek sonikasyon ya da vorteksleme sonrası ekimi öneren kantitatif kateter kültürü ($\geq 10^{2-3}$ koloni anlamlı) en sık kullanılan metodlar olmuştur. Fakat son yıllarda kateter çıkarılmadan kateter kaynaklı bakteriyemi tanısında faydalı olabilecek sistemler ön plana geçmiştir (56, 57). Üremeyi sinyal ile izleyen kan kültürü sistemlerinde eş zamanlı alınan perifer ve kateter kan kültürlerinde eğer kateterden alınan kan kültürü 2 saat ya da daha erken bir saatte sinyal veriyorsa kateter kaynaklı enfeksiyonu saptamak yönünden son derece faydalı bulunmuşlardır (56, 58). Santral venöz kateter dışında diğer damar içi kateterler hatta periferik venöz kateterler de zaman zaman enfeksiyon odağı olabilirler ve özellikle YBÜ hastalarında dikkatle izlenmeleri gerekir (59).

Nereden bakılırsa bakılsın kan kültürü sepsis hastasına yaklaşımda en temel uygulamadır. Gerçek etkeni saptamak ve antimikrobiyal duyarlılık konusunda yol göstermek aşamasında tartışmasız gerekli olan kan kültürü ne yazık ki zaman gerektiren bir testir. Son yıllarda kan kültüründeki üremelerin sonucunu hızla belirleyen hatta kısmen antibiyotik duyarlılığı saptayan (şişeden Mec A geni ile stafilokok metisilin duyarlılığı saptanması) testler geliştirilmektedir. Şişede üreme varlığında spektroskopi ile etkeni tanımlamak yanında floresans yöntemler kullanarak hızlı hibridizasyon (FISH) ya da etken spesifik polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemleriyle hızlı tanı konulabilmektedir. Bu yöntemler günümüzde standardize edilmemiş deneme aşamasında yöntemlerdir (60).

2.7.2.2. Moleküler yöntemler

Günümüzde hızlı tanımlama ve iş yükünün azaltılması amacıyla direk olarak kandan bakteriyel etkenlerin tanımlanması ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır.

PCR teknikleri kullanılarak nukleik asit amplifikasyonu ile bakteriyemik hastalarda bakterilerin 16SRNA geninin amplifiye edilmektedir. Etkenin aynı gün içerisinde tespit edilmesi, majör direnç paternlerinin moleküler olarak saptanması oldukça heyecan verici gözükmemektedir.(60)

Multiplex PCR yöntemi ile özellikle sık bakteriyemi etkeni olan mikroorganizmalara özgü olarak primer hazırlanmaktadır. Daha az miktarda kan örneği kullanılmakta ve daha hızlı sonuca ulaşılmaktadır.

Yöntemin en önemli kısıtlayıcı tarafı, kontaminasyon, cansız bakteriyel DNA'yı da saptamasından dolayı yaşanan yorum sıkıntısı ve kuşkusuz maliyettir.(60)

2.8. Tedavi

Tedavinin başarısı doğru ve erken klinik tanı, etiyolojik tanının konulması, destekleyici ve etkene yönelik uygun tedavinin erken başlanması, altta yatan hastalığın ortadan kaldırılması veya düzeltilmesine bağlıdır Güncel sepsis tedavisi;

1. Enfeksiyon kaynağının belirlenmesi, etkenin belirlenmesi ve enfeksiyon odağının kontrol edilmesi
2. Uygun antibiyotik tedavisinin başlanması
3. Hemodinamik fonksiyonların düzeltilmesi ve devam ettirilmesi
4. Oksijenlenme ve solunumun desteklenmesi

5. Antitrombotik, profibrinolitik, antiinflamatuvar tedavi
6. Metabolik destek
7. Kritik hastalarda komplikasyonların önlenmesi

2.8.1. Antimikrobial Tedavi

Kan kültürü alındıktan intravenöz antimikrobial tedaviye hemen başlanılmalıdır. Antibiyotik tedavisinin erken başlanması mortalite üzerine etkisi vardır (61, 62).

Sepsiste başlangıç antimikrobial tedaviye hemen daima ampirik olarak başlanır. Sepsis mortalitesi yüksek bir hastalık olduğundan başlangıç antimikrobial tedavi mutlaka olası tüm etkenleri kapsayacak şekilde geniş tutulmalıdır (63, 64).

Sepsiste antibiyotik seçimi çoğu kez ampirik olarak yapılır. Hastanın yaşı, enfeksiyonun kazanıldığı yer ve klinik bulgular bu seçimi etkiler. Kan kültürü ve fokal enfeksiyon odaklarından alınan kültür sonuçları elde edildiği zaman antimikrobiyal tedavi yeniden düzenlenir.(63,64)

Yenidoğan döneminde toplum kaynaklı sepsis tedavisinde ampirik olarak, ampisilin+ aminoglikozid, sefotaksim (veya seftriakson)+ampisilin veya sefotaksim (veya seftriakson) + aminoglikozid başlangıç tedavisinde kullanılır. Yenidoğan döneminden sonra toplum kaynaklı sepsisin ampirik tedavisinde sefotaksim veya seftriakson tek başına yeterlidir. Eğer sepsise Gram pozitif bir mikroorganizma ile oluşan veya etiyolojisi belli olmayan menenjit eşlik ediyorsa, bu durumda etkenin penisiline dirençli *S. pneumoniae* olma olasılığı nedeniyle tedaviye vankomisin eklenmesi gerekir. Hastane kaynaklı sepsiste veya altta sepsis oluşumuna yatkınlık yaratacak bir hastalığın varlığında antibiyotik seçimi hastanın yattığı ünite de görülen mikroorganizmalar, antibiyotik duyarlılıkları ve altta yatan hastalığın cinsine göre belirlenmelidir.

Tedavinin ne kadar sürdürülmesi gerektiği konusunda kesin bir fikir birliği yoktur. Tedavi süresine klinik cevaba, laboratuvar sonuçlarına, fokal enfeksiyon odağının varlığına ve eşlik eden klinik sorunlara göre karar verilmelidir. Toplum kökenli sepsiste 7-10 günlük tedavi yeterlidir. Klinik düzelme olduktan 5 gün sonra tedavi kesilebilir. Diğer hasta gruplarında tedavi süresi hastaya göre ayarlanmalıdır. Tedavi başlanmasından sonraki 24-48 saat içinde alınan kan kültürleri negatif olmalıdır. Eğer kültürler pozitif kalmaya devam ediyorsa enfekte kateter, endokardit, enfekte trombus, yeterli tedavi edilememiş bir fokal enfeksiyon odağı, ilaç direnci, yanlış ilaç dozu kullanımı gibi durumlar nedeniyle hastanın yeniden değerlendirilmesi gerekir.

Ampirik tedavi başlanan bir hastada klinik kötüleşme olması durumunda antibiyotik tedavisinde başarısızlık yanında klinik kötüleşmeye yol açabilecek değişik nedenlerin değerlendirilmesi gerekir. Antimikrobial tedavi başarısızlığın nedenleri sepsis etkeninin ampirik tedavinin spektrumuna girmemesi, düşük doz veya lokal enfeksiyon bölgesine antimikrobial ilacın yetersiz perfüzyonu veya ilaç antagonizması olabilir. Ancak sepsiste ortaya çıkan semptomlar inflamasyon sisteminin aktivasyonuna bağlı olduğundan sorumlu etkenin eradike edilmesi her zaman klinik düzelmeye yol açmaz. Sepsis nedeniyle ortaya çıkan organ yetmezlikleri, geri dönüşümsüz septik şok, yetersiz destek tedavisi, eşlik eden ek tıbbi sorunlar, adrenal yetmezlik, lokal enfeksiyon odağının ortadan kaldırılmaması veya süper enfeksiyon gibi durumlar da klinik kötüleşmenin nedenleri olabilir.

2.8.2. Fokal Enfeksiyon Odağının Ortadan Kaldırılması

Sepsis, bazen lokal bir enfeksiyon odağından (menenjit, pnömoni, apse, cilt enfeksiyonu, apandisit, gangrenöz bir ekstremité, nekrotik bir doku, barsak perforasyonu, septik artrit, osteomyelit, vs.) kan yayımı sonrasında gerçekleşir. Bazen de vücuttaki bir yabancı cismin enfekte olması (kateter enfeksiyonları, enfekte protezler, vs.) ve etkenin buradan dolaşıma karışması sonrasında ortaya çıkabilir. Sepsis tanısı konan her hasta lokal bir enfeksiyon odağı varlığı yönünden değerlendirilmelidir. Bu gibi durumlarda eğer enfeksiyon odağı doğrudan müdahale edilebilecek durumda ise hastanın başlangıç tedavisi yapıp hasta uygun hale getirildikten sonra odağın en kısa sürede ortadan kaldırılması veya kaynak enfekte bir yabancı cisim ise yabancı cismin hemen çıkartılması gerekir. Eğer intravasküler bir kateter enfeksiyon kaynağı ise yeni damar yolu açılınca enfekte intravasküler kateterin hemen çıkartılması gerekir. Bu işlemler yapılırken hastanın fizyolojik dengesini en az bozacak yöntem tercih edilmelidir. Örneğin perkütan bir drenaj yapılabilirse bu cerrahi drenaja tercih edilmelidir. Hastanın cerrahi işlem için başka bir üniteye nakledilmesinin ve yapılacak işlemin getireceği riskler (örneğin: kanama) düşünülmelidir. Bu risklere karşı gerekli önlemler alınmalıdır.

2.8.3. Destek Tedavisi

Günümüzde sepsis ve septik şok destek tedavisi hedef yönelimli tedavi biçiminde uygulanmaktadır. Bu tedavide hemodinamik dengelerin sağlanması, replasman tedavileri uygulanması ve monitörizasyonla takip tedavinin ana prensibidir (65).

2.9. Prognoz

Sepsis tedavisinde yeni gelişmelere rağmen ölüm oranı hala yüksektir. Değişik çalışmalarda ölüm oranı % 20-80 arasında bildirilmektedir (66, 67). Bu çalışmalarda farklı ölüm oranlarının bildirilmesi çalışma gruplarının heterojen olmasına bağlıdır. Gram negatif bakteriyel sepsislerde ölüm oranı % 45-50 (68, 69). Gram pozitif bakteriyel sepsislerde % 20-30 (70, 71) ve anaerob sepsislerde ise ölüm oranı % 15-30'dur (72). Şok, DİK, ARDS ve diğer organ yetmezliği komplikasyonları geliştiğinde ölüm oranı % 70-90 arasında değişmektedir (15, 73, 74). Etkenlere göre de ölüm oranları farklılık gösterir. En yüksek ölüm oranı *P. aeruginosa* sepsislerinde bildirilmektedir (15, 74, 75).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Haziran-Eylül 2011 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarına kan kültürü örnekleri gelen hastalar çalışmaya dahil edildi. Kan kültürü örnekleri laboratuara kabul edilen hastalardan, eş zamanlı olarak moleküler testlerin çalışılması amacıyla EDTA'lı tüpe kan örnekleri alınmıştır. Hastaların demografik özelliklerine hastane otomasyon yönetim sisteminden ulaşılmıştır.

3.1. Kan Kültürleri

Kan kültürü örnekleri BacT-Alert 3D (Biomérieux) tam otomatik kan kültürü sisteminde inkübe edildi. BacT/Alert 3D mikrobiyal saptama sistemi, bakteremi/fungemiye olduğundan şüphelenen hastalardan alınan numunelerin üremelerini aerobik ya da anaerobik olarak sürekli izleyen, numuneleri inkübe eden ve çalkalayan tam otomatik, kolorimetrik bir sistemdir. Numune cihaza yerleştirildikten sonra, pozitif veya negatif olarak saptanana kadar periyodik olarak, cihazın içinde takip edilir. Üreme olduğunun saptanması durumunda (pozitif bir sonuç) cihaz tarafından sesli alarm verilir. Bir numunede belirtilen süre içerisinde, herhangi bir mikrobiyal üreme görülmez ise negatif olarak bildirilir.

Tek kullanımlık BacT/Alert şişeleri, katı-faz reflektometrelerle sürekli izlenen karbondioksit sensörlerine sahiptirler. BacT/Alert bilgi işlem sistemi sensör okumalarını denetler ve hangi numunelerin negatif, hangilerinin pozitif olduğuna karar veren bir veritabanına sahiptir.

BacT-Alert kültür şişeleri tek kullanımlık, plastik kapaklı steril şişelerdir. Her şişe mikrobiyal üremenin göstergesi CO₂'i saptayan bir sensöre sahiptir. Şişelerin, 77 cc kapasitesi olup, aerobik, anaerobik ve pediatrik kullanım için planlanmış şekilleri vardır. Şişelerin iç tabanında kolorimetrik CO₂ sensörü bulunur. Bakteri üremesinin olması ile CO₂ oranındaki değişiklik sensörlerce algılanır ve cihaz software'i ekrandan üreme varlığını gösterir.

Aerobik şişeler, vakum altında CO₂ içeren kompleks aminoasitleri ve karbonhidrat substratları içeren triptik soya besiyeridir (40 ml). Antikoagulan olarak sodyum polianethol sulfonat (% 0.035) içerir.

Anaerobik şişeler; vakum altında CO₂ ihtiva eden hava atmosferinde kompleks aminoasitleri ve karbonhidrat substratları içeren triptik soya besiyeridir (40 ml). Antikoagulan olarak sodyum polianethol sulfonat (% 0.035) ihtiva etmektedir.

Pediyatrik şişeler; vakum altında CO₂ ihtiva eden nitrojen atmosferinde kompleks aminoasitleri ve karbonhidrat substratları içeren beyin kalp infüzyon besiyeridir (20 ml). Antikoagulan olarak sodyum polianetholsulfonat (% 0.02) içerir.

3.2. Bakterilerin tanımlanması

Üreme sinyali veren kan kültürü şişeleri, cihazdan çıkarıldı. Bek alevi yanında, şişe kapakları, alkollü pamukla silindikten sonra, şişelerden enjektör ile yaklaşık 1 ml kadar kan örneği alındı. Alınan örneklerin, % 5 koyun kanlı agar (Biomérieux, Fransa), eosin metilen blue (EMB) agar (Sigma) ve çukolata agara ekim yapıldı. Plaklar, 37 °C’lik etüvde 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süreleri sonunda konvansiyonel yöntemler (Gram boyama, katalaz testi, oksidaz testi, plazma koagülaz) ve Vitek 2 Compact (Biomérieux, Fransa) tam otomatik bakteri tanımlama sistemi kullanarak tanımlaması yapıldı.

Kanlı Agar: Hazır ticari olarak satılmakta olan ve 90 mm çapında, plastik petri içerisinde, % 5 koyun kanı içeren Mueller Hinton agar kullanıldı (Biomérieux, Fransa).

Eosin Metilen Blue Agar: Toz halinde ticari olarak satılmakta olan EMB agar, bir balon içerisinde 1 litre distile suya 36 gram eklenip 121 °C’de 15 dakika otoklavlanarak hazırlandı. El yakmayacak sıcaklığa (40-50 °C’ye) düştüğünde daha önceden steril etmiş olduğumuz cam petrilere (70-90 mm çapında) 0.4 mm kalınlıkta olacak şekilde döküldü ve besiyeri oda ısısında donduktan sonra plakları ters çevirerek buzdolabında +4 °C’de muhafaza edildi. Ekim yapmadan önce oda ısısında bir süre beklettikten sonra ekimler yapıldı.

EMB besiyerinin içeriği (gr/L.);

- Pepton 10.0,
- di-Potasyum hidrojen fosfat 2.0,
- Laktoz 5.0,

- Sukroz 5.0,
- Eosin 0.4,
- Metilen Blue 0.07,
- Agar-agar 13.5

Çukolata Agar: Toz halinde ticari olarak satılmakta olan Gelose Mueller Hinton 2 (MH2-D) agardan (Biomérieux, Fransa) steril bir balon içerisine 1 litre suya 38 gram olacak şekilde konuldu ve 121 °C’de 15 dakika otoklavlandı. Otoklavdan çıkdıktan sonra besiyerinin sıcaklığı 50-55 °C’ye düştüğünde % 5 oranında insan kanı (tam kan) eklendi. Kanı ekler eklemey balonu yavaş hareketlerle alev üzerinde çalkalayarak ısının etkisiyle eritrositlerin parçalanması ve sonuçta besiyerinin renginin kahverengi olmasını sağlandı. Steril cam plaklara besiyerini dökerek ve besiyerinin donmasını bekledikten sonra buzdolabının +4 °C bölmesinde muhafaza edildi. Ekim yapılmadan önce oda ısısında bir süre beklettikten sonra ekimleri yapıldı.

Çukolata agar içeriği;

- Gelose Mueller Hinton 2 (MH2-D) Agar (Biomérieux, Fransa)
- % 5 İnsan kanı; kan bankasından torba kan olarak temin edildi.

3.2.1. Konvansiyonel Yöntemler

3.2.1.1. Gram boyama (76, 77)

Preperat Hazırlanması

- Temiz bir lam üzerine öze ile bir damla steril fizyolojik tuz çözeltisi damlatıldı.
- Öze bek alevinde sterilize edilerek, soğuması için kısa süre beklendi,
- Steril öze ile katı besiyerinden bir miktar bakteri kolonisi alındı,
- Bakteri kolonisi lam üzerine damlatılmış su ile karıştırıldı,
- Öze bek alevinde sterilize edilerek yerine kondu,
- Preparat havada kurutuldu,
- Bir pens yardımıyla bir ucundan tutulan lam bek alevinden 3 kere geçirilerek fiksasyon yapıldı.

Boyama

- Uygulamada hazırlanan preparat üzerine kristal violet damlatılarak 1-2 dakika beklendi,
- Su ile hafifçe yıkanarak boyanın fazlası akıtıldı,
- Lugol çözeltisi damlatılarak 1 dakika bekletildi, sürenin sonunda lugol çözeltisi akıtıldı.
- Preparat % 95'lik etil alkol ile 10-15 saniye yıkandı.
- Preparat, saf sudan geçirildikten sonra sulu karbol fuksin çözeltisi ile 10-30 saniye boyandı.
- Damıtık su ile iyice yıkanıp ve kurutma kağıdı ile hafifçe suyu alınarak kurumaya bırakıldı.
- İmmersiyon objektifi ile mikroskopta incelendi.

Kullanılan çözeltiler

Kristal violet çözeltisi:

- Kristall violet 0.50 gr
- Damıtık su 100.00 ml

Lugol çözeltisi

- İyot 1.00 gr
- KI 2.00 gr
- Damıtık su 300.00ml

3.2.1.2. Katalaz Testi (78)

- Katı besi yerinde (kanlı agar hariç) üremiş olan mikroorganizma kolonilerinden platin öze ile yeterli miktarda alınarak temiz bir lamın üzerine konuldu.
- Üzerine, % 30'luk hidrojen peroksitten bir damla damlatıldı.
- Hidrojenperoksit katılmasından sonra hava kabarcıkların görülmesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi.

Şüpheli durumlarda mikroskop altında muayene yapılarak değerlendirildi.

3.2.1.3. Oksidaz testi (79, 80)

Bu test, mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve intrasellüler olan oksidase enziminin (sitokrom C oksidase) varlığını ortaya koymada kullanılır. %1'lik

tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride bir kurutma kağıdına emdirilip, öze ile alınan bir koloninin bu kağıda sürülmesine takip eden saniyeler içerisinde renk değişiminin olup olmamasına bakılır. Mavi rengin oluşması bakterinin oksidaz enzimi ürettiğini gösterir. Hiç bir renk değişikliğinin olmaması negatif olarak değerlendirilir. Üreyen bakterilerin kanlı agardaki kolonileri üzerine hazır olarak temin edilen substrat emdirilmiş (tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride) strip (Oxoid), değiştirilerek oluşan renk reaksiyonu 1-2 dakika içerisinde değerlendirildi. Kağıt üzerinde mavi, mor rengin oluşması oksidaz pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.1.4. Koagülaz Testi: Çalışmamızda lamda koagülaz testi yapıldı. Lam üzerine bir damla latex koagülaz (Oxoid) damlatıldı. Üzerine test edilecek bakteri ile süspansiyon yapıldı. İyice karıştırıldıktan sonra aglütinasyon varlığı pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi.

3.2.2. Bakterilerin Biyokimyasal Özellikleri

Bakterilerin biyokimyasal özellikleri Vitek 2 (Biomerieux, Fransa) tam otomatik bakteri tanımlama sistemi ile belirlenmiştir. Vitek 2 sistemi bakterilerin ve mayaların tanımlanmasında kullanılan, kolorometrik, bilgisayar destekli bir yöntemdir. Tanımlama liyofilize kartlara, 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonunun dağıtılması, 8-16 saat 35.5 ± 1.0 °C’de cihazın inkübatöründe inkübasyondan sonra kuyucuklardaki biyokimyasal verilerin toplanıp, veri tabanındaki datalarla karşılaştırılmasıyla yapılır. Tanımlama amacıyla, GN (Gram negatif) tanımlama kartı, GP (Gram pozitif) tanımlama kartı ve maya (yeast) tanımlama kartı kullanılmıştır.

Vitek 2 GN İdentifikasyon Paneli

- | | |
|---------------------------------|------------------------------|
| • Ala-Phe-Pro Arylamidase | • Glutomyl Arylamidase pNA |
| • Adanitol | • Glucose |
| • L-Pyrolidonyl-Arylamidase | • Gamma-Glutamyl-transferase |
| • L-Arabitol | • Fermentation/Glucose |
| • D-Cellobiose | • Beta-Glucosidase |
| • Beta-Galactosidase | • D-Maltose |
| • H ₂ S Production | • D-Mannitol |
| • Beta-N-Acetyl-glucosaminidase | • D-Mannose |

- Beta-Xylosidase
- Beta-Alanine arylamidase pNA
- L-Proline arylamidase
 - Lipase
 - Palatinose
 - Tyrosine Arylamidase
 - Urease
 - D-Sorbitol
 - Saccharase/Sucrose
 - D-Tagatose
 - Citrate
 - Malonate
 - 5-Keto-D-Gluconate
 - L-Lactate alkalisation
 - Alpha-Glucosidase
- Succinate-alkalination
- Beta-N-acetyl-galactosaminidase
- Alpha-Galactosidase
- Phosphatase
- Glycine-Arylamidase
- Ornithine-Decarboxylase
- Lysine-Decarboxylase
- L-Histidine assimilation
- Coumarate
- Beta-Glucuronidase
- Glu-Gly-Arg-Arylamidase
- L-Malate assimilation
- L-Lactate assimilation

Vitek 2 GP İdentifikasyon Paneli

- D-Amygdalin
- Phosphatidilinositol
- Phospholipase-C
- D-Xylose
- Arginine dihydrolase-1
- Beta- galactosidase
- Alpha-Glucosidase
- Ala-Phe-Pro Arylamidase
- Cyclodextrine
- L-Aspartate Arylamidase
- Beta galactopyranosidase
- Alpha-Mannosidase
- Phosphatase
- Leucine Arylamidase
- L-Proline Arylamidase
- Beta Glucuronidase
- Alpha-galactosidase
- Alanine-arylamidase
- Tyrosine Arylamidase
- D-Sorbitol
- Urease
- Polymixin B resistance
- D-Galactose
- D-Ribose
- L-Lactate
- Lactose
- N-acetyl-D-glucosamine
- D-Maltose
- Bacitracin Resistance
- Growth In 6.5 % NaCl

- D-Mannitol
- D-Mannose
- Methyl-B-D-Glucopyranosidase
- Pullulane
- D-Raffinose
- O/129 Resistance
- Salicin
- Sacharose/sucrose
- D-Trehalose
- Arginine Dihydrolase 2
- Optochin resistance

Vitek 2 Yeast identifikasyon Paneli

- L-Lysine-arylamidase
- L-Malate
- Leucine Arylamidase
- Arginine Gp.
- Erythritol
- Glycerol
- Tyrosine arylamidase
- Beta-N-acetyl- glucosaminidase
- Arbutine
- Amygdaline
- D-Galactose
- Gentiobiose
- D-Glucose
- Lactose
- Methyl-A-D-Glucopyranoside
- D-Cellobiose
- Gamma-glutamyl-transferase
- D-Maltose
- D-Raffinose
- Pnp-N-Acetyl-Bd-
Galactosaminidase-1
- D-Mannose
- D-Melibiose
- D-Melezitose
- L-Sorbose
- L-Rhamnose
- Xylitol
- D-Sorbitol
- Saccharose /Sucrose
- Urease
- Alpha-Glucosidase
- D-Turanose
- D-Trehalose
- Nitrate
- L Arabinose
- D-Galacturonate
- Esculin Hydrolyse
- L-Glutamate
- D-Xylose
- DL-Lactate
- Acetate
- Citrate (sodium)
- Glucuronate
- L-Proline
- 2- Keto-D-Gluconate
- N-Acetyl-Glucosamine
- D-Gluconate

3.2.3. Moleküler Yöntemler

DNA izolasyonu ve amplifikasyonu Septi-Fast (Roche Diagnosis) hazır ticari kiti ile yapıldı.

LightCyler Septi-Fast Testi ile 3 aşamada tanımlama yapıldı;

- Mekanik lizis ve DNA saflaştırması ile örnek hazırlanması,
- 3 paralel reaksiyonda (Gram pozitif bakteri, Gram negatif bakteri, mantar) hedef DNA'nın gerçek zamanlı PCR amplifikasyonu ve spesifik hibridizasyon problemleri aracılığıyla ölçüm,
- Örneklerin ve kontrollerin otomatik tanımlanması,

3.2.3.1. DNA izolasyonu

Her bir hastadan alınan, 1.5 ml'lik EDTA'lı kan örnekleri kullanıldı. Bu yöntemi kullanarak, kan örneği mekanik olarak (cam ve seramik boncuklar) ve kimyasal (guanidinyum tiosianat ve proteinaz K) yöntemle parçalanır; saflaştırılmış DNA daha sonra cam elyaf üzerine bağlı ve yüksek sıcaklıkta sulandırıldı. DNA izolasyonu high pure PCR template preparation kit (Roche) ile manuel olarak yapıldı.

- Eppendorf tüp içine 200 µl tam kan örneği ve üzerine 200 µl binding buffer ve 40 µl proteinase K eklendi ve iyice vortekslendi.
- Hazırlanan miks 70 °C 'de 10 dakika bekletildi.
- BU miks üzerine 100 µl isopropanol eklendi ve iyice vortekslendi.
- Hazırlanan karışımın tamamı collection tube (filtreli kolonların içinde bulunduğu) aktarıldı.
- Collection tüplere alınan örnekler 8.000 g 'de 60 saniye santrifüj edildi.
- Santrifüj edilen filtreler yeni collection tüplere aktarıldı ve üzerlerine 500 µl inhibitor removal solüsyon eklendi.
- Collection tüpler 8.000 g'de 60 saniye santrifüj edildi.
- Santrifüj edilen filtreler yeni collection tüplere aktarıldı ve üzerilerine 500 µl wash buffer eklendi.
- Collection tüpler 8.000 g'de 60 saniye santrifüj edildi.
- Aynı collection tüplerin üzerilerine tekrar 500 µl wash buffer eklendi.
- Collection tüpler 8.000 g'de 60 saniye santrifüj edildi.

- Santrifüj edilen filtreler yeni collection tüplere aktarıldı ve üzerlerine solüsyon eklenmeden 13.000 g'de 10 saniye santrifüj edildi.
- Sonrasında filtreler 1.5 ml'lik steril ependorf tüplere aktararak üzerlerine 200 µl elution buffer eklendi (70 °C ısıda bekletilmiş).
- 8.000 g'de 60 saniye santrifüj edildi. Bu işlem sonunda 1.5 ml'lik steril ependorf tüplerin dibinde elde edilen saf DNA (200 µl) -20 °C'de amplifikasyon aşamasına dek bekletilir.

Reaktif Hazırlama

Proteinase K hazırlama: Proteinase K şişesine 4.5 ml. distile su eklendi ve vorteksenerek kullanıma hazır hale getirildi. 500 µl'lik aliquotlara ayrılarak -20 °C'de muhafaza edildi.

Inhibitor Removal Buffer hazırlama: Inhibitor Removal Buffer şişesine 20 ml % 96'lık absolute etil alkol eklendi ve vorteksenerek kullanıma hazır hale getirildi.

Wash Buffer hazırlama: Wash Buffer şişesine 80 ml % 96'lık absolute etil alkol eklendi ve vorteksenerek kullanıma hazır hale getirildi.

Kit içerisinde bulunan Elution Bufferdan ekstraksiyon işleminin son basamağında kullanılmak üzere çalıştığımız hasta sayısına yeter miktarda, her hasta için 200 µl olacak şekil steril ependorf tüp içerisine konularak 70 °C'deki kuru ısı bloğunda beklettildi.

3.2.3.2. DNA Amplifikasyonu

Hedef seçimi; iç kısımdaki transkripsiyona uğramış ara (IS S-internal iranscribed spacer) bölge, bakteri ve mantar örneklerinin ayırt, edilmesi için hedef bölge seçilmiştir. Bakteri ve mantar genomlarında çeşitli operonlar bulunduğundan, tekli kopya genlerinden daha yüksek bir analitik duyarlılık sunar. Ayrıca, ITS ribozomal RNazlardan türe daha spesifiktir ve bu nedenle türlerin ayırt edilmesi için en uygun olandır. Tüm bakterilerin 16S ve 23S ribozomal DNA sekansları arasında ve tüm mantarların 18S ve 5.8 S ribozomal DNA sekansları arasında yer alır. Saptanabilen bakteriler Tablo 4'te gösterilmiştir.

Amplifikasyon; PCR Amlifikasyonundan önce, Amphrase (urasil-N-glikosilaz) enzimi kullanılarak ampikon kontaminasyonu riski azaltılır. Deoksiüridin içeren DNA sarmallarını tanıyıp bunların bozulmasını katalize eder, ancak deoksitimidin içeren

DNA'yı tanımaz. İşleme tabi tutulmuş örnekler, içinde PCR amplikasyonunun meydana geldiği LighCycler® Kapilerler (100 pL) M^{GRADE} içindeki hot-start Taq polimeraz içeren amplifikasyon karışımına eklenir. Belirtilen örneklerin her bir hedefi, jenerik veya spesifik primerlerle amplifiye edilir. Hedeflerden bir karışım Reaktif Kontrollerinde olarak amplifiye edilir.

Tablo 4. Septifast testi ile saptanan etkenler

Gram negatif	Gram pozitif	Mantar
<i>Escherichia coli</i>	MRSA (mec-A)	<i>Candida albicans</i>
<i>Klebsiella (pneumoniae/oxytoca)</i> ¹	KNS	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Enterobacter (cloacae/aerogenes)</i> ¹	<i>Streptococcus spp.</i> ²	<i>Candida glabrata</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>		
<i>Stenotrphomonas maltophilia</i>		

¹İki türü ayıramamaktadır.

²Streptococcus agalaciae, pyogenes, viridans.

Septifast Mastermiks ve LC kapillerlerinin Hazırlanması; 1 şişe RM 1a, RM 1b. DM G+, DM G-, DM F, RC G+, RC G-, RC F (LC Septifast Kiti içinde) çalışmadan 15 dakika önce dışarı çıkarıldı

1. RM 1a haricindekiler, hafifçe vortekslendi ve tümü spin santrifüj yapıldı.
2. Tüm reaktifler ve deteksiyon miksleri Septifast Cooling Block üzerindeki uygun yerlerine yerleştirildi.
3. RM 1b'den 600 µl RM 1a içine ilave edildi ve pipetleme ile hafifçe karıştırıldı.
4. Oluşturulan RM'den (Reagent miks) 200 µl DM G+, DM G- ve DM F içine ayrı ayrı ilave edildi. Böylelikle Mastermiks G+, MMX G- ve MMX F oluşturulmuş oldu.

5. Septifast Cooling Block üzerindeki uygun noktalara Mgrade Light Cycler 100 µl' kapillerlerden ilave edildi.
6. Oluşturulan MMX'lerden her biri sağdan sola olacak şekilde 50 µl kapillerlere ilave edildi.
7. MMX'ler ihtiva eden kapiller içine 50 µl DNA ilave edilir.
8. Light Cycler Carousel Centrifuge'de santrifüj edilerek Light Cycler cihazına yükleme yapıldı.

PCR Ürünlerinin HybPr be probları tarafından Gerçek Zamanlı Ölçümü

Spesifik bir çift HybPr be kullanılarak floresan ile ölçülür. Floresanla işaretli bu Hyb problar, amplifikasyon döngüsünün birleşme aşaması sırasında amplifiye edilmiş fragmanın bir iç sekansı ile hibritleşir. Yayılan floresan LightCycler® 2.0 Cihazı tarafından dört farklı ölçüm kanalından birinde ölçülür. Amplifikasyonun tamamlanmasından sonra bir erime eğrisi analizi gerçekleştirilir. Erime sıcaklığı TM'leri, prob ile hedef DNA arasındaki uzunluk, sekans ve homoloji derecesine bağlıdır. Problar, bir kanalda ölçülen TM'leri ile bu türlerin ayırt edilmesi için tasarlanmıştır.

Türlerin ve Kontrollerin Otomatik Tanımlanması

Örneklerin ve kontrollerin erime sıcaklıkları (TM) belirlenmiş bir tanımlama yazılımıyla (SeptiFast Tanımlama Yazılımı) analiz edilir ve bir rapor oluşturulur. Çalışma akışı kontaminasyon aralığını yansıtan düşük konsantrasyonlarda KNS görüntülenmez.

4. BULGULAR

Haziran-Eylül 2011 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen 164 hastaya ait kan kültürü örneği çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan hastaların, 77'si kadın (% 46.9), 87'si erkek (% 53. 1) olarak bulundu. Hastalar 1-92 yaşları arasında idi. Çalışmaya alınan kan kültürü örneklerinin kliniklere göre dağılımı Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. Kan kültürü örneklerinin kliniklere göre dağılımı

Klinik	Sayı (%)
Dahiliye Hematoloji	45 (27.4)
Dahili Yoğun Bakım	45 (27.4)
Anesteziyoloji ve Reaminasyon	41 (25)
Beyin Cerrahi	5 (3.1)
Genel Cerrahi	3 (1.8)
Yetişkin Gastroentoloji	3 (1.8)
Ortopedi ve Travmatoloji	3 (1.8)
Göğüs Hastalıkları	3 (1.8)
Kadın Hastalıkları	2 (1.2)
Yetişkin Romatoloji	2 (1.2)
İnfeksiyon Hastalıkları	2 (1.2)
Yetişkin Nefroloji	2 (1.2)
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	2 (1.2)
Yeni Doğan Yoğun Bakım	1 (0.6)
Büyük Acil	1 (0.6)
Yetişkin Nöroloji	1 (0.6)
KBB Hastalıkları	1 (0.6)
Plastik ve rekonstruktif cerrahi	1 (0.6)
Pediyatrik Onkoloji	1 (0.6)
TOPLAM	164

Örneklerin kliniklere göre dağılımının homojen olmadığı, en sıklıkla hematoloji ve yoğun bakım ünitelerinden örnek geldiği saptanmıştır.

Çalışmaya alınan kan kültürü örneklerinin 113'sinde (% 68.2) üreme saptanmazken, 51 örnekte (% 31.09) bir mikroorganizma saptandı. Kan kültüründe bulunan sonuçların dağılımı Tablo 6.'de gösterilmiştir.

Tablo 6. Kan kültüründe saptanan mikroorganizmaların dağılımı

MİKROORGANİZMA	SAYI (%)
<i>S. haemolyticus</i>	11 (6.7)
<i>S. hominis ssp. hominis</i>	8 (4.9)
<i>S. epidermidis</i>	7 (4.3)
<i>A. baumannii</i>	5 (3.1)
<i>P. aeruginosa</i>	3 (1.8)
<i>E. coli</i>	4 (2.4)
<i>K. pneumoniae</i>	4 (2.4)
<i>Salmonella</i> Group	1 (0.6)
<i>E. faecium</i>	3 (1.8)
Küf Mantarı	1 (0.6)
<i>C. albicans</i>	2 (1.2)
<i>C. tropicalis</i>	1 (0.6)
<i>S. capitis</i>	1 (0.6)
ÜREME YOK	113 (68.9)
TOPLAM	164

Çalışmaya alınan kan kültürü örneklerinin 51'inde (% 31.1) bir bakteri izole edildi. En fazla izole edilen mikroorganizmalar koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) olarak bulundu. Örneklerin 11'inde *S. haemolyticus*, 8'inde *S. hominis*, 7'sinde *S. epidermidis* ve 1 örnekte *S. capitis* olmak üzere 27 örnekte (saptanan bakterilerin % 52.9) KNS izole edildi.

Kan kültürü laboratuvara kabul edildikten sonra, aynı hastalardan alınan tam kan örneklerinde moleküler yöntemle de bakteriyemi etkeni araştırıldı. 164 hastanın, 114'ünde (% 69.5) herhangi bir etken saptanmazken, 50 (% 30.5) örnekte bir ve/veya iki etken saptanmıştır (üç örnekte iki etken saptandı).

Moleküler olarak saptanan bakteriyemi etkenlerinin dağılımı Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7. Moleküler yöntemle saptanan sonuçların dağılımı

MİKROORGANİZMA ADI	SAYI (%)
KNS	17 (10.8)
<i>E. cloacae/aerogenes</i>	10 (6)
<i>K. pneumoniae/oxytoca</i>	7 (4.2)
<i>S. aureus</i>	5 (3.1)
<i>P. aeruginosa</i>	3 (1.8)
<i>E. faecium</i>	1 (0.6)
<i>E. faecalis</i>	1 (0.6)
<i>A. baumannii</i>	1 (0.6)
<i>S. maltophilia</i>	1 (0.6)
<i>S. pneumoniae</i>	1 (0.6)
<i>E. coli</i>	2 (1.2)
<i>C. krusei</i>	2 (1.2)
<i>C. albicans</i>	2 (1.2)
NEGATİF	114 (68.3)
TOPLAM	167

Moleküler olarak en fazla saptanan mikroorganizma KNS olarak bulunmuş olup, tespit edilen 53 mikroorganizmanın 17'sinde (% 32.1) bulundu.

Kan kültürü ve moleküler olarak, 164 örneğin 96'sında benzer sonuca ulaşılmış (uyum % 58.5), 68 örnekte farklı sonuçlar alınmıştır. Kan kültürü ile moleküler yöntemle aynı olarak bulunan sonuçlar Tablo 8.'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Kan kültürü ve sepsis paneliyle aynı bulunan sonuçlar

Sonuç	Kan kültürü	Sepsis paneli
KNS	5	5
<i>K. pneumoniae</i>	3	3
<i>P. aeruginosa</i>	2	2
<i>C. albicans</i>	1	1
<i>E. coli</i>	1	1
Üreme yok/negatif	83	83
TOPLAM	95	

164 örneğin 83'ünde (% 50.6) her iki testle de bir etken saptanmadı. Kan kültürü negatif olarak 113 örneğin 83'de (% 73.5) moleküler olarak etken saptanmamış, kan kültüründe üreme olan 51 örneğin 12'sinde (% 23.5) aynı etken saptandı. İki testin negatif saptama oranı, pozitif saptama oranına kıyasla daha yüksek düzeyde uyumlu bulundu.

Kan kültüründe üreme saptanmayan diğer 30 örnekte moleküler olarak bir mikroorganizma saptanmıştır. Bunlar;

- KNS;10 örnekte,
- *K. pneumoniae/oxytoca*; 2 örnekte,
- *E. cloacae/aerogenes*; 8 örnekte,
- *S. aureus*; 4 örnekte,
- *E. faecium*; 1 örnekte,
- *S. maltophilia*; 1 örnekte,
- *S. pneumoniae*; 1 örnekte,
- *P. aeruginosa*; 1 örnekte,
- *C. krusei*; 1 örnekte,
- *E. coli*;1 örnekte olarak bulunmuştur.

Moleküler olarak bir etken saptanmayan 31 örnekte ise kan kültüründe bir mikroorganizma saptanmıştır. Bunlar;

- 8 örnekte *S. haemolyticus*,
- 5 örnekte *S. epidermidis*,

- 4 örnekte *A. baumannii*,
- 6 örnekte *S. hominis*,
- 1 örnekte *C. tropicalis*,
- 1 örnekte *K. pneumoniae*,
- 1 örnekte *Salmonella* group,
- 1 örnekte *E. coli*,
- 1 örnekte *C. albicans*,
- 2 örnekte *E. faecium*,
- 1 örnekte *P. aeruginosa*

Her iki yöntemle de 8 örnekte farklı etkenler saptanmış olup, Tablo 9.'da gösterilmiştir

Tablo 9. Kan kültüründe ve moleküler olarak farklı saptanan etkenler

Kan kültüründe saptanan etken	Sepsis panelinde saptanan etken
<i>A. baumannii</i>	<i>E. cloacae/aerogenes</i>
<i>S. hominis</i>	<i>E. faecalis/A. baumannii</i>
<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae/oxytoca</i>
<i>S. hemolyticus</i>	<i>S. aureus/C. albicans</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>K. pneumoniae/oxytoca</i>
<i>E. coli</i>	KNS
<i>E. faecium</i>	<i>C. krusei/KNS</i>
Küf Mantarı	<i>E. cloacae/aerogenes</i>

Moleküler olarak üç örnekte birden fazla etken izole edilmiştir. Bir örnekte, *E. faecalis/A. baumannii*, bir örnekte *S. aureus/C. albicans*, bir örnekte de *C. krusei/KNS* izole edilmiştir. Birden fazla bakteri saptanan bu 3 örnekte de saptanan bakterilerin hepsi kan kültüründen farklı etkenler olarak bulundu.

5. TARTIŞMA

Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanıma girmesi, hasta popülasyonundaki değişiklikler, immunosupresyon, altta yatan hastalıklardaki artış, kateter ve intravenöz solusyonların daha sık kullanılması gibi nedenlerle, son yıllarda kandan izole edilen mikroorganizmalarda artış olmuştur (6). Bakteriyemi ve sepsis, yüksek mortalite ve morbiditeyle seyreden, klinik spektrumu değişik olabilen bir klinik tablodur (81). Çoklu organ yetmezliği ile seyreden ciddi sepsis, koroner bakım üniteleri dışındaki YBÜ'e ölüm nedenleri içinde ikinci sıradadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde tüm ölüm nedenleri içinde ise 10. sırada yer almaktadır. Ölüm oranı 1979-1984 yılları arasında % 28 iken, 1995-2000 yılları arasında düşüş saptanmıştır. Bununla beraber, ölen hasta sayısında artış söz konusudur ve günümüzde sepsise bağlı ölüm oranları yine de akut miyokard infarktüsü ve akut inmeye bağlı ölüm oranlarından daha fazladır (82, 83)

Bakteriyemilere bağlı mortalite % 20-50 arasında bildirilmektedir (84, 85). Mortalitede gözlenen bu oransal fark kuşkusuz, hastaneler arasındaki başta teknik donanım ve sağlık hizmetlerinde sunulan farklı hizmet şekillerine bağlı olmakla beraber, oranları etkileyen en önemli faktörün çalışmalarda alınan hasta popülasyonları olduğu söylenebilir. Toplum kaynaklı bakteriyemilerde mortalite daha düşükken, nozokomiyal olarak edinilmiş bakteriyemilerde daha yüksektir. Ayrıca farklı hastanelerde farklı direnç profillerine sahip etkenlerin varlığı da prognozu etkilemektedir. (84,85)

Erken tanı konarak tedaviye başlanmasının mortalite oranlarını önemli ölçüde azalttığı bildirilmektedir. Örneğin kandidemide tedavide 12 saatten fazla gecikmenin mortaliteyi önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir (86). Kumar ve ark. (62) da septik şok vakalarında tanıda her bir saatlik gecikme sonucunda oluşan hipotansyon ile tedavi başarısının % 8 azaldığını bildirmiştir. Tanı ve prognoz arasındaki dikkat çekici bu korelasyondan dolayı, hızlı sonuca varmayı sağlayan çeşitli tanı yöntemleri kullanıla gelmiştir. Kuşkusuz, etkenin direk saptandığı ve etkene yönelik invitro duyarlılık testlerinin çalışılabilirdiği kan kültürü yöntemleri tüm tanı testleri içerisinde altın standarttır. Bununla beraber kan kültüründe etkenin saptanarak, duyarlılık testlerinin çalışılması yaklaşık 2-5 günlük bir süre gerektirdiğinden, günümüzde spesifik etkeni aynı gün içerisinde saptayabilen ve saptanan etkenin majör direnç paternlerinin çalışılabileceği

moleküler testler de kullanıma sunulmuştur. Bu çalışma da bu moleküler testlerin bakteriyemi tanısındaki kullanılabilirliğini irdelemek amacıyla planlanmıştır.

Çalışmaya alınan hastalar 1-92 yaşları arasında ve 87'si (% 53.04) erkek ve 77'si (% 46.9) kadın olarak bulunmuştur. Çalışma grubu belirli bir zaman dilimi gözetilerek toplanan hastalardan oluşmuş olmasına rağmen cinsiyet dağılımının benzer olduğu gözlenmiştir.

Kan kültürü örneklerinin geldiği kliniklere göre dağılımına bakıldığında en fazla örneğin dahiliye hematoloji servisi (n: 45, % 27.4), dahiliye yoğun bakım ünitesi (n: 45, % 27.4) ve reanimasyon ünitesinden (n: 41, % 25) gönderilmiş olduğu bulunmuştur. Bu klinikler nötropenik, uzun süre hastanede yatan ve yoğun bakım gerektiren kritik hastaların yattığı servislerdir. Nozokomiyal enfeksiyonların tümünün de en fazla görüldüğü hasta grubudur. Çalışmamızda hastaların tümü hastanede yatan hastalardan seçilmiş ancak bakteriyemi kaynağı nozokomiyal olup olmaması açısından, sorgulanmamıştır.

Tüm bakteriyemi olgularında, kan kültürlerinde her zaman bir etken saptanamayabilmektedir. İntrasellüler patojenler, hastaların antibiyotik alıyor olmaları, üremek için özel koşulların sağlanması gereken bakteriler, kan kültürü sistemlerinde gözlenebilen yalancı negatiflik (ki bu durum daha çok az yada çok örnek alınması, alınan örneğin inkübatöre konmadan uzun süre oda ısısında beklemesi gibi alım tekniğindeki hatalarla ilişkilidir) gibi durumlar veya bakteriyemi bulgusuna rastlanmadan ampirik alınan kan kültürü örneklerine bağlı olarak etken saptanamayabilmektedir. Kliniğimizde daha önce yapılan bir çalışmada Mehli ve ark. (87) örneklerin % 26.26'sında üreme saptamıştır. Willke ve ark.'da (88) örneklerin % 12'sinde üreme olduğunu bildirmişlerdir. Bu oran bizim çalışmamızda % 31.1 olarak bulunmuştur.

Bakteremiye neden olan mikroorganizmaların dağılımında, zaman içinde değişiklikler gözlenmiştir. Hastanelerde endemik olarak bulunan mikroorganizmalar ve bunların antibiyotiklere duyarlılıklarının değişmesi bu değişikliklerin en önemli nedenlerindendir. Antistafilokokal beta-laktamların kullanıma girmesiyle, 1970'li yıllarda, *Enterobacteriaceae* ailesi başta olmak üzere Gram negatif bakteriler en sık karşımıza çıkmaktayken, 1980'den sonra Gram pozitif mikroorganizmalara daha sık rastlanıldığı gözlenmiştir (49). Ancak durum merkezden merkeze değişebilmektedir. Bu farklılıklar, hastanenin tipi ve büyüklüğüne, bakteriyemilerin hastane ve toplum kaynaklı olarak ayrılmasına, bakteriyemilerin içinde kateterle ilişkili olanların

oranına, hastanede uygulanan antibiyotik tedavi protokollerine bağılı olabilir. Yapılan çalışmalarda, kan kültürlerinden Gram negatif bakterilerin % 20-64, Gram pozitif bakterilerin ise % 27-78 oranında izole edildiğı bildirilmektedir (6, 89, 90). Oranlar arasındaki ciddi farklılıklar da bahsedildiğı gibi, etkenlerin hastaneden hastaneye değışmesinin yanı sıra, farklı hasta gruplarını (hastane kaynaklı, toplum kaynaklı, kateter ilişkili vb.) içermesine bağlanmaktadır. (49)

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda Gram pozitif ve Gram negatif bakteri oranlarını sırası ile Yurtsever ve ark. (91) % 71 ve % 27, Kaya ve ark. (92) % 62.2 ve % 37.8, Yüce ve ark. (30) % 28.1 ve % 59.3, Duman ve ark. (93) % 68.5 ve % 31.5 olarak bildirmişlerdir. Bizim alışmamızda da kan kültüründen izole edilen bakterilerin oranı sırasıyla % 58.8 ve % 33.3 olarak bulunmuştur. Bulgularımızın Türkiye'deki verilere benzer olduğu gözlenmiştir.

İzole edilen Gram pozitif bakteriler içerisinde KNS bir çok çalışmada en sık izole edilen etken olup, izolasyon oranı % 40-50 arasında bildirilmektedir (87, 88). Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) ve SCOPE alışma grupları ABD'de de nozokomiyal bakteriyemilerde en önemli etkeni KNS olarak bildirmektedir (66). Europa Prevalence Infection Committee (EPIC) verileri de benzer şekildedir (94). Bizim alışmamızda da 11'i *S. haemolyticus*, 8'i *S. hominis*, 7'si *S. epidermidis* ve 1'i *S. capitis* olmak üzere üreme saptanan örneklerin % 52.9'unda KNS türü bakteriler saptanmıştır. KNS izolasyonu bundan 10-15 yıl öncesine dek çok önemsenmez, deri florasının kontaminasyonu olarak değerlendirilirken, bu gruptaki bakterilerin kateter yüzeyleri başta olmak üzere çeşitli ekipmanlara yapışma özelliklerinin olduğunun bulunmasıyla değerlendirmedeki bakış açısı da değişmiştir. Kateterler dışında, slime üreten KNS izolatları çeşitli plastik yüzeyler, ortopedik implantlar gibi hastane ortamında sık kullanılan birçok alandan izole edilmektedir. Yine de KNS'nin kontaminasyon olasılığının ekarte edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla kan kültüründen aynı duyarlılık paternine sahip KNS türünün en az iki kez izole edilmesi gerektiğı bildirilmektedir. Eğer katetere bağlı bakteriyemi araştırılıyor ise de, bu durumda eş zamanlı olarak kateter ve bir başka periferik damardan kan kültürü alınması, örneklerin alınış zamanının da istem kağıdına yazılması gerekmektedir. İnkbatre konduktan sonra üreme zamanını takip edilerek, kateterden alınan kan kültürü örneğinin diğer örnekten en az iki saat önce üremesi durumunda, katetere bağlı bakteriyemi olarak değerlendirilmektedir. KNS grubu bakterilerin katetere bağlı bakteriyemilerde de en sık izole edilen bakteriler olarak bildirilmektedir (95).

Kan kültüründe saptanan bulgularla moleküler olarak saptanan bulgular karşılaştırıldığında 164 hastanın 95'inde benzer sonuçlara ulaşılmış olup, uyum % 57. 9 olarak bulunmuştur. Saptanan uyumun negatif örneklerde daha yüksek (% 73.5), pozitif örneklerde daha düşük (% 23.5) olduğu gözlenmiştir.

Kan kültüründe üreme saptanmayan 30 örnekte moleküler olarak bir etken bulunmuştur. Saptanan bu etkenlerden 10'u KNS, diğerleri de üretilmesi açısından özel koşullar gerektirmeyen çeşitli bakterilerdir. Bu grupta yer alan bakterilerin kan kültüründe saptanamaması, cilt bulaşına (hastanede yatan hastaların cilt florasında KNS yanı sıra enterik bakterilerin, *Pseudomonas* türlerinin ve mayaların sık kolonize olduğu bilinmektedir), bakterilerin sayısının az olmasından dolayı kültürde ürememesine bağlanabilir. Hastaların almakta oldukları antibiyotiklerin de bu sonuca etki ettiği düşünülmektedir. Kan kültürü sistemlerine serumdaki antibiyotik düzeyinin kan kültürü sonuçlarına etkisini azaltmak amacıyla çeşitli şelatör reçineler ilave edilmektedir. Bununla beraber yoğun antibiyotik tedavisi altındaki hastalardaki yüksek serum antibiyotik konsantrasyonlarının, üreme saptanması üzerine olumsuz etkisi olduğu bildirilmektedir. Moleküler yöntemlerle ise, bakterinin canlı olmasına dahi gerek kalmadan DNA saptanabildiğinden bu durum, moleküler yöntemlerin duyarlılığını etkilememektedir. (95)

Moleküler olarak etken saptanamayan 31 örnekte de kan kültüründe bir etken bulunmuştur. Moleküler testler hızlı ve duyarlı sonuç alınabilen testler olmasına rağmen, test sonucunu olumsuz etkileyen faktörlerin başında saptanmaya çalışılan DNA'nın amplifiye olmasını engelleyen çeşitli inhibitörler gelir. Hemoglobinin yapısındaki hem molekülü, heparin gibi antikoagülanlar ve örnekte çok miktarda farklı DNA'nın olması bu inhibitörlerin başlıcalarındandır. Kan kültürüyle saptanan etkenlerden biri dışında (*Salmonella* spp.) teorik olarak diğer tüm etkenlerin PCR ile de saptanması beklenirken, saptanamamış olmasının PCR inhibisyonuna bağlı olabileceği düşünülmüştür. Antikoagülan olarak tüplerde EDTA bulunduğundan inhibisyonun diğer faktörlere ilgili olduğu sonucuna varılmıştır.(95)

Her iki tanı yönteminde örneklerin 8'inde tamamen farklı sonuçlar bulunmuştur. Bu durumu açıklayabilmek bizim açımızdan oldukça zor olmuştur. Kandan izole edilen etkenlerden 3'ü KNS, 1'i de küf mantarıdır. Bu etkenlerin tekrarlayan kültürlerde izole edilip edilmediği irdelenmediğinden, etken mi yoksa kan kültürü örneklerinin alınması sırasında uygulanan antisepsi ile ilgili olarak kontaminasyon mu olduğu bilinmemektedir. Moleküler olarak saptanamamış olmaları, bize ikinci olasılığı daha

çok düşündürmüştür. Geçici bakteriyemi, kateter enfeksiyonu, cilt florasının bulaşı, polimikrobiyal bakteriyemi gibi faktörlerin bu duruma sebep olabileceği düşünülmüştür. Louie ve ark. (96) 200 hastadan bizim çalışmamıza benzer bir çalışmada eş zamanlı olarak kan kültürü örneği almışlar ve moleküler olarak da bakteriyemi etkenlerini bu çalışmada kullanılan Septifast testi ile çalışmışlardır. 140 (% 70) hastada her iki yöntemle de üreme saptamamış, 45 örnekte her iki yöntemle de bir etken bulmuş ancak bunların sadece 19'unda aynı etkeni izole etmiş 26 örnekte farklı etkenler bulmuştur. Bu çalışmada Septifast maliyet etkin olarak bildirilmiş ve örneklem olarak da PCR ile iki gün erken başlanan *S. aureus* tedavisi ile 6.000 dolar az tedavi maliyeti bulunduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda testler arasında üreme olmayan örneklerde % 73.5 uyum saptanırken, üreme olan her iki yöntemle 20 örnekte üreme saptanmış ve bunların 12'sinde aynı etken, 8'inde farklı etkenler bulunmuştur (% 23.5 uyum).

Direk kandan PCR ile etken saptanmasına yönelik çalışmalarda duyarlılık % 54-100 ve özgüllük % 72-99 olarak bildirilmektedir (70). Moleküler yöntemlerde maliyet, standardizasyon sorunu, antibiyotik duyarlılığını belirlenememesi gibi sorunların yanında, laboratuvar kontaminasyonu ve cansız mikroorganizma DNA'sının saptanabilmesi gibi sorunlar olduğu bilinmektedir. Bu bakış açısıyla kan kültürünün, zaman açısından geç sonuç alınmakla birlikte tanısız açıdan PCR'dan daha geçerli bir tanı yöntemi olduğu düşünülmektedir.

Kan kültürünün bakteriyemi tanısında hala altın standart olduğu bildirilmektedir. Yeni geliştirilen kan kültürü sistemleri hızlı, etkin ve kullanışlı sistemlerdir ve hemokültür için geniş kullanım alanları bulmuşlardır. BACTEC (Becton Dickinson, florometrik sistem) ve BacT/Alert (BioMeireux, kolorimetrik sistem) en çok kullanılan sistemlerdir. Kan kültürü alımında en önemli sorun kontaminasyondur. Bu sorunu en aza indirmek için en uygun yol uygun bir hemokültür protokolü uygulamaktır. Kan alma işinde görevli özel personel "flebotomist" varlığı kontaminasyon oranlarını azaltmaktadır. Femoral bölgeden ve dermatolojik sorun olan bölgeden kan kültürü alınmaması önerilir. Sadece kateterden alınan kan kültürleri yanıltıcı sonuçlar vereceğinden önerilmez. Kateter alınması sürecinde uygun cilt antisepsisi en büyük sorun kaynağıdır. Farklı öneriler olmakla beraber, alkol, iyot bileşikleri en çok kullanılan antiseptiklerdir. Bu antiseptiklerin doğru uygulanmasında sorunlar olabilmektedir. İyotlu antiseptik kullanıldığında kurummasının (yaklaşık 30-60 saniye) ve bu arada etki etmesinin beklenmemesi, antisepsi uygulanan bölgeye steril eldiven giymeden tekrar damarı palpe etmek amacıyla dokunulması en sık yapılan hatalardır. Alınan kanın hemokültür

şişesine aktarılmasında şişenin kapağı tercihen alkol ile silinmelidir ve bu aşamada iyot önerilmemektedir. İğnenin değiştirilmesinin gerekliliği tartışmalı bir konudur. İşlem sonunda derideki iyot alkol ile temizlenmelidir (70, 85). Saptanan sonuçlarda kontaminasyonun ekarte edilmesi için uygulanan çeşitli parametrelerin bulunması yanı sıra, her kan kültürü üreme sonucu hasta başında ve hastaya özel olarak yorumlanarak kesin karar verilmelidir (53, 97).

İnfeksiyon hastalıklarının en ciddilerinden biri olan bakteriyemide spesifik etkenin saptanarak erken tedaviye başlanması prognoz üzerinde doğrudan etkin olduğu bilinmektedir. Çeşitli indirek tanı yöntemleri (en sık kullanılanları, lökosit sayısı, CRP, prokalsitonindir) sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin bakteriyemi dışında bir çok durumda da saptanması duyarlılığını düşürmektedir. Spesifik tanı yöntemlerinden kan kültürünün halen bakteriyemi için en duyarlı yöntem olduğu, moleküler olarak etkenlerin saptanmasına yönelik testlerde yaşanan sorunların giderilmesiyle, yakın bir gelecekte daha yaygın kullanılacağı ve daha uyumlu sonuçlara ulaşılacağı düşünülmektedir. Moleküler testlerin kullanılmasıyla ilgili en önemli kısıtlayıcı faktörlerin alt yapı sorunu ve maliyet olduğu bilinmektedir. PCR yöntemlerindeki gelişmeler, robotik sistemlerin geliştirilmesi, konvansiyonel yöntemlere nazaran gerekli laboratuvar koşullarını nispeten kolaylaştırmıştır. Maliyetle ilgili de daha geniş hasta gruplarında çalışmalar yapılarak maliyet etkinlik araştırılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Davies MG, Hagen PO. Systemic Inflammatory Response Syndrome. Br J Surg 1997; 84: 920-935.
2. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American Collage of Chest Physicans. Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992; 101(6): 1644-1655.
3. Members of American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Comittee. American Collage of Cest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Critical Care Medicine 1992; 20(6): 864-874.
4. Doğanay M. Nozokomiyal sepsis: önemi ve tanımlar. Hastane Enfeksiyonları Dergisi 1998; 2: 179-181.
5. Yong LS. Sepsis Syndrome. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principle and Practice of Infectious Diseases. Fifth Edition. Churchill Livingstone Penn, 2000; 806-819.
6. Doğanay M. Sepsis. Willke A, Söyletir G, Doğanay M (editörler). İnfeksiyon Hastalıkları Kitabı'nda. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1996; 473-485.
7. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. Lancet. 2005; 365(9453): 63-78.
8. Uzun Ö. Sepsiste Empirik Tedavi Yaklaşımı. Akalın HE, Kanra G (editörler). Empirik Antibiyotik Tedavisi Kitabı'nda. Ankara: Güneş Kitabevi, 1994; 175-186.
9. Ansoy A. Septisemi. Petek 2001; 1(4): 99- 107.
10. Opal M, Cohen J. Clinical Gram-pozitive sepsis: Does it fundamental differ from Gram-negative bacterial sepsis. Crit Care Med 1999; 27: 1608-1616.
11. Sands K, Bates D, Lanken P. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medial centers. JAMA 1997; 278: 234-240.
12. Aygün G. Sepsis ve septik şok. Tabak F, Öztürk R, Aktuğlu Y (eds). Akılcı antibiyotik kullanımı ve erişkinde toplumdan edinilmiş enfeksiyonlar kitabında. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi No 31, 2002: 131-140.

13. Mermel LA. Prevention of intravascular catheter- related infections An Intern Med 2000; 132 (5): 391-402.
14. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infection. Am J infect Control 1988; 16 (3): 128-140.
15. Uzun Ö, Akalın HE, Hayran M, Ünal S. Factors influencing prognosis in gram-negative bacteraemia: Evaluation of 448 episodes in a Turkish university hospital. Clin Infect Dis 1992; 15: 866-873.
16. Bacteraemic Infections. In: Bannister AB, Begg NT, Gillespie SH (eds). Infectious Diseases. First Edition. Blackwell Science Ltd., 1996; 283-300.
17. Gullberg RM, Homann SR, Phair JP. Enterococcal bacteremia: analysis of 75 episodes. Rev Infect Dis 1989; 11(1): 74-85.
18. Hoge CW, Adams J, Buchanan B, Sears SD. Enterococcal bacteremia: to treat or not to treat, a reappraisal. Rev Infect Dis 1991; 13 (4): 600-605.
19. Hamill RJ, Maki DG. Endotoxin shock in main caused by gram-negative bacilli. Etiology, clinical features, diagnosis, natural history, and prevention. In: Proctor RA, (ed). Handbook of Endotoxin. Vol.4, Amsterdam, Elsevier; 1986:55.
20. Lynn WA. Sepsis. In: Armstrong D, Cohen J (eds). Infectious Diseases. London: Mosby; 1999: Vol 1, section 2, 47.1-14.
21. Fontana R, Canepari P, Leo MM, Satta G. Mechanisms of resistance of enterococci to betalactam antibiotics. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990; 9: 103-110.
22. Doğanay M. Sepsis: yeni tanımlar ve patogenez. Flora 1996; 1:3-10.
23. Bone RC. Gram-positive organisms and sepsis. Arch Intern Med 1994; 154(1): 26-34.
24. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. Ann Intern Med 1991;115 (6): 457-459.
25. Doganay M. Gram negatif bakteri sepsislerinde patogenez ve tedavi. In: Tümbay E, Ang Ö, Karakartal G, yazarlar. 1. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı. İzmir: Bilgehan basımevi; 1987: 48.
26. Stevens DL. Invasive group A streptococcus infection. Clin Infect Dis 1992; 14(1): 2-11.
27. Kansu E. Sepsis fizyopatolojisinde güncel kavramlar. Köksal, Çakar N, Arman D (editörler). Yogun Bakım enfeksiyonları, 1. baskı. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2005; 369-379.

28. Munford RS. Sepsis, severe sepsis and septic shock. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia 2005; pp: 906-927.
29. Balk, RA. Severe sepsis and septic shock. Definitions, epidemiology, and clinical manifestations. Crit Care Clin 2000; 16:179.
30. Yüce P, Demirdağ K, Kalkan A, Özden M, Denk A, Kılıç SS. Kan kültürlerinde izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. Aknem Derg 2005; 19: 17-21.
31. Aube H, Milan C, Blettery B. Risk factors septic shock in the early management of bacteremia. Am J Med. 1992; 93(3): 283-288.
32. Franson TR, Hierholzer WJ, LaBrecque DR. Frequency and characteristic of hyperbilirubinemia associated with bacteremia. Rev Infect Dis 1985;7:1-9.
33. Hansson LO, Lindquist L. Enfeksiyon hastalıklarının tanı ve izleminde C-reaktif proteinin rolü. Enfeksiyon Hastalıkları Gündemi 1997;11:33-44.
34. Clyne B, Olshaker S. The C-reactive protein. Journal of Emergency Medicine 1999; 17(6): 1019-1025.
35. Lehrnbecher T, Venzon D, Haas M, Chanock SJ, Kuhl J. Assessment of Measuring Circulating Levels of Interleukin-6, Interleukin-8, C-Reactive Protein, Soluble FC Receptor Type III, and Mannose- Binding Protein in Febrile Children with Cancer and Neutopenia. Clinical Infectious Diseases 1999; 29: 414-419.
36. Whang KT, Steinwald PM, White JC, Nylen ES, Snider RH, Simon GL, Becker K. Serum Calcitonin Precursors in Sepsis and Systemic Inflammation. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1998; 83 (9): 3296-3301.
37. Gendrel D, Bohuon C. Procalcitonin as a marker of bacterial infection. Pediatr Infect Dis J 2000; 19: 679-688.
38. Maisner M. Procalcitonin-a new, innovative infection parameter biochemical and clinical aspects. 3th ed. George Thieme Verlag 2000, New York; 1-196.
39. Oczenski W, Fitzgerald RD, Schwarz S. Procalcitonin: a new parameter for the diagnosis of bacterial infection in the peri-operative period. European Journal of Anesthesiology 1998; 15:202-209.
40. Ortatlı M, Özgüven V, Şengül A. Sepsis ve ağır enfeksiyonların tanı ve takibinde yeni bir belirteç: Prokalsitonin. Flora 1999; 4: 151-155.
41. Maruna P, Nedelnikova K, Gürlich R. Physiology and genetics of procalcitonin. Physiol Res 2000; 49 (1): 57-61.

42. Monneret G, Laroche B, Bienvenu J. Procalcitonin is not produced by circulating blood cells. *Infection* 1999; 27: 34-35.
43. Carrol ED, Thomson APJ, Hart CA. Procalcitonin as a marker of sepsis. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 20: 1-9.
44. Llewelyn M, Cohen J. Diagnosis of infection in sepsis. *Intensive Care Med* 2001; 27 (1): 10- 32.
45. Vidaur L, Rodriguez A, Rello J. Antibiotic therapy for sepsis, severe sepsis, and septic shock: The "Tarragona" strategy. In Vincent JL (ed). *Year Book of Intensive Care and Emergency Medicine* 2004, Springer Verlag, Berlin, 229-241.
46. Ağuş N, Okan G, Çağlan FC, Sarıca A, Akkoçlu G, Şahinoğlu L, Dağdeviren H. Erişkin yaş grubunda kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiklere duyarlılıkları. *Ankem Derg* 1999; 13(2): 116.
47. Young LS. Sepsis syndrome In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed, Philadelphia, Churchill Livingstone 2000; pp: 806-819.
48. Mylotte JM, Tayara A. Blood culture: clinical aspects and controversies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 157-163.
49. Sümerkan B. Nozokomiyal sepsis: etyoloji ve mikrobiyolojik tanısı. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* 1998; 2: 182-187.
50. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Jr Winn WC. The Gram positive cocci. *Staphylococcus and related organisms*. In: *Color Atlas of Text Book of Diagnostic Microbiology*; 5th ed. Philadelphia.1997, pp: 539-576.
51. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol* 1994; 2:2829-2831.
52. Fovler VG, Scheld WM, Bayer AS. Endocarditis and intravascular infections. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone 2005: 975-1022.
53. Cohen J, Brun-Buisson C, Torres A, Jorgensen J. Diagnosis of infection in sepsis: an evidence-based review. *Crit Care Med* 2004; 32(1): 466-494.
54. Kurt C, Yılmaz M, Mete B, Yemişen M, Deirel A, Vanlı E, Karabulut G, Özaras R, Tabak F, Mert A, Öztürk R. Yanlış pozitif kan kültürü oranları ve laboratuvar maliyeti. *Klimik Derg* 2005; 18 (Özel Sayı1): 213.
55. Isenberg HD. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*; 2nd ed. Washington, DC. 2004.

56. Öztürk R. Damar içi kateterelele bağı enfeksiyonlar ve korunma. Doğanay M, Ünal S (ed). Hastane İnfeksiyonları kitabında. Bilimsel Tıp Yaynevi, Ankara 2003: 489-517.
57. Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. N Engl J Med 1977; 296: 1305-1309.
58. Raad I, Hanna HA, Alakech B, Chatzinikolaou I, Johnson MM, Tarrand J. Differential time to positivity: a useful method for diagnosing catheter-related bloodstream infections. Ann Intern Med 2004; 140: 18-25.
59. Aygün G, Karaşahin K, Dikmen Y, Yaşar H, Sıdan A, Midilli K, Can G, Atlas K. Yoğun bakım ünitesinde periferik venöz kateterlerin enfeksiyon yönünden değerlendirilmesi . Flora Dergisi 2004; 9: 43-46.
60. Peters RP, van Agtmael MA, Danner SA, Savelkoul PH, Vandenbroucke-Grauls CM. New developments in the diagnosis of bloodstream infections. Lancet Infect Dis 2004; 4(12): 751-760.
61. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Reinhart K, Angus DC, Brun-Buisson C, Beale R, Calandra T, Dhainaut JF, Gerlach H, Harvey M, Marini JJ, Marshall J, Ranieri M, Ramsay G, Sevransky J, Thompson BT, Townsend S, Vender JS, Zimmerman JL, Vincent JL; International Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee; American Association of Critical-Care Nurses; American College of Chest Physicians; American College of Emergency Physicians; Canadian Critical Care Society; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; European Society of Intensive Care Medicine; European Respiratory Society; International Sepsis Forum; Japanese Association for Acute Medicine; Japanese Society of Intensive Care Medicine; Society of Critical Care Medicine; Society of Hospital Medicine; Surgical Infection Society; World Federation of Societies of Intensive and Critical Care Medicine. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Crit Care Med 2008; 36: 296-327.
62. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Ligh B, Parrillo JE, Sharma S, Suppes R, Feinstein D, Zanotti S, Taiberg L, Kumar A, Chearg M. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. Crit Care Med 2006; 34: 1589-1596.
63. Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. Chest 2000; 118: 146-155.
64. Leibovici L, Shraga I, Drucker M, Konigsberger, H., Samra, Z, Pitlik, S. D. The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. J Intern Med 1998; 244: 379-386.

65. Brierley J, Carcillo JA, Choong K, Cornell T, Decaen A, Deymann A, Doctor A, Davis A, Duff J, Dugas MA, Duncan A, Evans B, Feldman J, Felmet K, Fisher G, Frankel L, Jeffries H, Greenwald B, Gutierrez J, Hall M, Han YY, Hanson J, Hazelzet J, Hernan L, Kiff J, Kissoon N, Kon A, Irazuzta J, Lin J, Lorts A, Mariscalco M, Mehta R, Nadel S, Nguyen T, Nicholson C, Peters M, Okhuysen-Cawley R, Poulton T, Relves M, Rodriguez A, Rozenfeld R, Schnitzler E, Shanley T, Kache S, Skippen P, Torres A, von Dessauer B, Weingarten J, Yeh T, Zaritsky A, Stojadinovic B, Zimmerman J, Zuckerberg A. Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal septic shock: 2007 update from the American Collage of Critical Care Medicine. *Crit Care Med* 2009; 37 (2): 666-688.
66. Edmond MB, Wallance SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals three year analysis. *Clin. Infect Dis* 1999; 29 (2): 239-244.
67. Weinstein MP, Towns ML, Quarterly SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, Reller LB. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis* 1997; 24:584-602.
68. Kieft H, Hoepelman AI, Zhou W, Rozenberg-Arska M, Struyvenberg A, Verhoef J. The sepsis syndrome in a Dutch University Hospital. *Arch Intern Med* 1993; 153: 2241-2247.
69. Martin MA, Silverman HJ. Gram-negative sepsis and the adult respiratory distress syndrome. *Clin Infect Dis* 1992; 14:1213-1228.
70. Aygün G. Akut ateşli hastada laboratuvarın akılcı kullanımı. Toplumdan edinilmiş enfeksiyonlara pratik yaklaşımlar sempozyum dizisi. Dizi no: 61, 2008: 31-42.
71. Martin MA, Pfaller MA, Wenzel RP. Coagulase-negative staphylococcal bacteremia. *Ann Intern Med* 1989;110: 9-16.
72. Aygen B, İnan M, Doğanay M, Keleştimur F. Adrenal functions in patients with sepsis. *Exp Clin Endocrinol Diab* 1997; 105 (3): 182-186.
73. Fourrier F, Chopin C. Goudemand J, Hendrycx S, Caron C, Rime A, Marey A, Lestavel P. Septic shock, multiple organ failure, and disseminated intravascular coagulation Compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies. *Chest* 1992; 101: 816-823.
74. Harris RL, Musher DM, Bloom K, Gathe J, Rice L, Sugarman B, Williams TW, Jr, Young EJ. Manifestations of sepsis. *Arch Intern Med* 1987;147(11):1895-1906.

75. Pittet DL, Li N, Woolson N, Wenzel RP. Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial bloodstream infections: A 6-year validated, population-based model. Clin Infect Dis 1997; 24:1068-1078.
76. Bilgehan Hakkı. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. Hakkı Fakülteleri Kitabevi Barış Yayınları: İzmir ,Aralık 1999: 18,19
77. Mutlu G, Ögünç D. Mikroorganizmalarda hücre yapısı. Ustaçelebi Ş ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi 1999, Ankara, 7-21.
78. Gunn BA, Kiser JF, Almazon RD. Culture Media, test and Reagents in Bacterology. In: Howard BJ, Klass J, (eds). Clinical and pathogenetic microbiology. The CV mostry Company, St. Louis 1987; pp 849-905.
79. Michael JJ, Abbott SL. Bacterial Identification for Publication: When Is Enough Enough? J. Clin Microbiol 2002; 40:1887-1891.
80. www.mikrobiyoloji.org/TR/yonlendir.aspx? Erişim tarihi; 01.06.2012.
81. Weinstein MP. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology and interpretation of results. Clin Infect Dis 1996; 23(1): 40-46.
82. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med 2003; 348: 1546-1554.
83. Vincent JL, Abraham E, Annane D, Bernard G, Rivers E, Van den Berghe G. Reducing mortality in sepsis new directions. Crit Care. 2002; 69(1 3): 1–18.
84. Pirson M, Dramaix M, Struelens M, Riley TV, Leclercq P. Cost associated with hospital-acquired bacteraemia in a Belgian hospital. J Host Infect 2005; 59(1): 33-40.
85. Magadia RR, Weinstein MP. Laboratory diagnosis of bacteremia and fungemia. Infect Dis Clin North America 2001; 15: 1009-1024.
86. Morrell M, Victoria J. Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the Empiric Treatment of *Candida* Bloodstream Infection until Positive Blood Culture Results Are Obtained: a Potential Risk Factor for Hospital Mortality. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(9): 3640-3645.
87. Mehli M, Gayyurhan ED, Zer Y, Akgün S, Özgür Akın FE, Balcı İ. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. İnfeksiyon Dergisi 2007; 21(3): 141-145.
88. Willke A, Azak E. Kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları: üç yıllık sonuçlar. Ankem Derg 2011; 25 (Ek1): 1.

89. Durmaz G, Tercan U, Aydın A, Kiremitçi A, Kiraz N, AkgünY. Optimum detection times for bacteria and yeast species with the BACTEC 9120 Aerobic Blood Culture System: Evaluation for a 5-year period in a Turkish University Hospital. *Clin Microbiol* 2003; 41(2): 819-821.
90. Tuncer D, Gültekin M, Öngüt G. BacT/Alert otomatize kan kultur sistemi ile alınan sonuçların değerlendirilmesi. *Turk J Infect* 1997;10: 351-353.
91. Yurtsever SG, Baran N, Afşar İ, Yalçın MA, Kurultay N, Türker M. İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotiklere karşı duyarlılıkları. *Klimik Derg* 2006; 19: 56-59.
92. Kaya S, Arıdoğan CB, Çetin H, Demirci M. Çocuk hastalardan alınan kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik dirençleri. *Fırat Tıp Derg* 2007; 12: 34-36.
93. Duman Y, Kuzucu Ç, Çuğlan SS. Kan kültürlerinden izole edilen bakteriler ve antimikrobiyal duyarlılıkları. *Erciyes Tıp Derg* 2011; 33(3): 189-196.
94. Vincent JL, Bihari DJ, Suter P.M, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH, Wolff M, Spencer RC, Hemmerb M. Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *Jama* 1995; 274: 639-644.
95. Ünver S, Atasoyu EM, Evrenkaya TR, Ardiç N, Özyurt M, Öncül O, M. Tülbek YM. Kateterle İlişkili Bakteriyemide Vücut Florasının Önemi. *İnfeksiyon Derg* 2005; 19(1): 87-90.
96. Louie TR, Tang Z, Albertson ET, Cohen S, Tran NK, Kost GJ. Multiplex polymerase chain reaction detection enhancement of bacteremia and fungemia. *Crit Care Med* 2008; 36(5): 1487-1492.
97. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 444-465.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Gaziantep Şahinbey ilçesinde doğdu. 2005 -2010 yılları arasında Muğla Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde okudu. 2010 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans programına başladı.