T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAYDARPAŞA NUMUNE
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

PROKALSİTONİN, C-REAKTİF PROTEİN VE LÖKOSİT DEĞERLERİNİN BAKTERİYEMİLİ HASTALARIN KAN KÜLTÜRÜNDE ÜREYEN MİKROORGANİZMA TÜRÜNÜN TAHMİNİNDE KULLANIMI

DR. HATİCE KÜBRA ÖZHAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2019

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAYDARPAŞA NUMUNE
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

PROKALSİTONİN, C-REAKTİF PROTEİN VE LÖKOSİT DEĞERLERİNİN BAKTERİYEMİLİ HASTALARIN KAN KÜLTÜRÜNDE ÜREYEN MİKROORGANİZMA TÜRÜNÜN TAHMİNİNDE KULLANIMI

DR. HATİCE KÜBRA ÖZHAN

Tez Danışmanı
PROF. DR. SEBAHAT AKSARAY

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2019

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR……ii

SİMGELER VE KISALTMALAR……...……...iii

TABLO LİSTESİ……...…….v

ŞEKİL LİSTESİ……vii

ÖZET……viii

ABSTRACT……x

GİRİŞ VE AMAÇ……...1

GENEL BİLGİLER……...3

GEREÇ VE YÖNTEMLER……19

BULGULAR…….30

TARTIŞMA……..50

SONUÇLAR…….57

KAYNAKLAR……..60

ÖZGEÇMİŞ……..64

EKLER……...……...67

1. TEŞEKKÜR

Tezimin tüm aşamalarında benim yanımda olan, asistanlık süresince beni cesaretlendiren ve destekleyen, her zaman kibar, saygılı ve çalışkan oluşunu kendime örnek aldığım değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Sebahat Aksaray'a,

Bilgi ve tecrübelerini bize her fırsatta aktarmaya çalışan, iyi bir mikrobiyolog olmamız için canla başla uğraşan Doç. Rıza Adaleti'ye, mikrobiyolojiye yaklaşımı ve deneyimleriyle ufkumu genişleten uzmanlarım Dr. Nilgün Kansak ve Dr. Özlem Doğan'a, bir uzmandan çok arkadaşımız gibi hissettiren Dr. Müge Aslan'a,

İstatistiğin karmaşık dünyasını anlamamı sağlayan ve tezimin bu kısmında bana her zaman yardımcı olan uzmanımız Efe Serkan Boz'a, epidemiyoloji ve tez yazımı konusunda engin bilgisini paylaşan Prof. Dr. Işıl Maral'a,

Asistanlıkta başıma gelecek her şeyi benden önce yaşayıp hem kılavuzum hem yoldaşım olan çiçeği burnunda uzman arkadaşım Dr. Gülden Aydın'a, asistan odamızın neşe ve huzur kaynağı olmasını sağlayan Dr. Nihan Yıldız, Dr. Tuba Akar Erkmen, Dr. Ezgi Akpınar ve Dr. Şeyma Çalık'a ve benimle birlikte asistan odasında bulunmuş tüm arkadaşlarıma,

Tezimin verilerini elde etmemde yardımcı olan Murat Aydemir'e ve başta Aynur Kalaylı ve Aysel Uzcan olmak üzere tüm teknisyen arkadaşlarıma,

Başarılarımın mimarı ve bu aileden olduğum için beni her zaman dünyanın en şanslı insanı hissettiren canım babam Recep Şen'e, canım annem Gürsel Şen'e ve biricik kardeşim Ayşe Büşra Şen'e,

Beni kendi çocuklarından ayırmayan sevgili teyzem ve eniştem Fatma Elik ve Cemal Elik'e, desteklerini her zaman hissettiğim ve her sıkıntımda yardımıma koşan kayınpederim İsmail Hakkı Özhan ve kayınvalidem Leyla Özhan'a,

Fakülteden beri hayatın zorluklarını da mutluluğunu da birlikte paylaştığımız canım eşim Dr. Abdulkerim Özhan'a ve mutluluk kaynağım Rana ve İnci'ye,

En içten sevgi ve teşekkürlerimle...

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADT	Antimikrobiyal Duyarlılık Testi
AUC	Eğri Altında Kalan Alan (Area Under Curve)
CALC-1	Calcitonin-1 geni
CCP-1	Calcitonin Carboxyl-terminus Peptide-1
CI	Güven aralığı
CRP	C-reaktif Protein
DOR	Diyagnostik Odds Ratio
GN	Gerçek Negatif
GP	Gerçek Pozitif
IL	İnterlökin
IQR	Çeyrekler Arası Aralık (Interquartile Range)
İYE	İdrar Yolu Enfeksiyonu
LPS	Lipopolisakkarit
J	Youden İndeksi
KNS	Koagülaz Negatif Stafilokok
KPC	*Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz
MALDI-TOF MS	Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry)
MRSA	Metisiline dirençli *S.aureus* (Methicillin-resistant *S.aureus*)

NPD	Negatif Prediktif Değer
PCT	Prokalsitonin
PPD	Pozitif Prediktif Değer
ROC	Received Operatör Characteristic
SAA	Serum Amiloid A
SE	Standart Hata
SPS	Sodyum Polianetol Sülfonat
TLR	Toll-like Receptor
TNF-α	Tümör Nekrozis Faktör-α
WBC	Beyaz Kan Hücresi (White Blood Cell)
YN	Yalancı Negatif
YP	Yalancı Pozitif

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Araştırmanın zaman çizelgesi……...…20

Tablo2: Biyobelirteç düzeylerinin yorumlanması……..26

Tablo 3: Tanı testinin değerlendirilmesi……...…….28

Tablo 4: Hastaların demografik özelliklerine göre dağılımı……..30

Tablo 5: Kan kültürlerinin kliniklere göre dağılımı…….....31

Tablo 6: Kan kültürü gruplarının biyobelirteç düzeylerine göre karşılaştırılması….34

Tablo 7: Biyobelirteçlerin kan kültüründe üreyen etkene göre düzeyi……..36

Tablo 8: Kan kültürü üremesi varlığının biyobelirteç pozitifliğine göre değerlendirilmesi….....37

Tablo 9: Kan kültürü pozitifliğinin belirlenmesinde biyobelirteçler için ROC eğrisi parametrelerinin karşılaştırılması……....39

Tablo 10: Kan kültürü üremesinin tahmininde biyobelirteçlerin tanısal performans değerleri……..40

Tablo 11: Polimikrobiyal alt gruplarının biyobelirteç düzeyi açısından Gram negatif grup ile karşılaştırılması……..41

Tablo 12: PCT ve CRP testinin gram negatif bakteri bulunan üremeleri diğer olgulardan ayırmada farklı cut-off'lardaki tanısal performans değerleri……...44

Tablo 13: Fermenter gram negatif grubu, nonfermenter gram negatif gruptan ayırmada PCT ve CRP için ROC eğrisi parametrelerinin karşılaştırılması……....45

Tablo 14: PCT ve CRP testlerinin fermenter gram negatif bakterileri, nonfermenter gram negatif bakterilerden ayırmada farklı cut-off'lardaki tanısal performans değerleri……..46

Tablo 15: Bakteri üremesini, maya üremesinden ayırmada biyobelirteçler için ROC eğrisi parametrelerinin karşılaştırılması……..47

Tablo 16: CRP ve PCT testlerinin bakteri üremesini, maya üremesinden ayırmada farklı cut-off'lardaki tanısal performans değerleri……48

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: PCT'nin çeşitli dokular tarafından üretim aşamaları…….....14

Şekil 2: Bakteriyel enfeksiyon sırasında biyobelirteçlerin kinetik profilleri…….15

Şekil 3: PCT değerlerinin yorumlanması……...17

Şekil 4: Çalışmaya dahil edilen hastaların belirlenmesinde kullanılan akış çizelgesi……..23

Şekil 5: Grupların yaş dağılımları.....……...…….32

Şekil 6: PCT'nin gruplar arası dağılımı…….…32

Şekil 7: CRP'nin gruplar arası dağılımı…….33

Şekil 8: WBC'nin gruplar arası dağılımı……...33

Şekil 9: Kan kültürü pozitifliğinin belirlenmesinde PCT, CRP ve WBC'nin ROC eğrisi ile karşılaştırılması……....39

Şekil 10: Gram negatif bakteri bulunan üremeleri diğer olgulardan ayırmada PCT için ROC eğrisi……...42

Şekil 11: Gram negatif bakteri bulunan üremeleri diğer olgulardan ayırmada CRP için ROC eğrisi……...….43

Şekil 12: Fermenter gram negatif grubu, nonfermenter gram negatif gruptan ayırmada PCT ve CRP'nin ROC analizi ile karşılaştırılması…….45

Şekil 13: Bakteri üremesini, maya üremesinden ayırmada PCT ve CRP'nin ROC analizi ile karşılaştırılması……..47

Şekil 14: Kan kültürü sonucunu tahmin etmede biyobelirteçlerin kullanımının akış şeması…….49

ÖZET

AMAÇ

Bakteriyemili hastalarda enfeksiyona sebep olan mikroorganizmanın tespitinde kan kültürü altın standart testtir; ancak en erken 48 saat sonra sonuçlanmaktadır. Bu nedenle kan kültürü sonucunun çıkmasına kadar geçen sürede prokalsitonin (PCT) ve diğer biyolojik belirteçlerin etken tahmininde kullanılabilmesinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Haydarpaşa Numune Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 01.01.2016-01.01.2018 tarihleri arasında gönderilen kan kültürleri sonuçları Gram negatif, Gram pozitif, Maya, Polimikrobiyal ve Negatif olmak üzere 5 gruba ayrılarak; eş zamanlı ölçülen PCT (Finecare, Çin), C-reaktif protein (CRP) (Archem Diagnostics, Türkiye) düzeyleri ve lökosit sayıları (WBC) (Abbott, ABD) ile birlikte retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya 264 kan kültürü üremeli, 302 üremesiz olmak üzere toplam 566 olgu dahil edilmiştir. Gram negatif grubun PCT düzeyi Gram pozitif, Maya ve Negatif gruplardan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,001$). Maya ve Negatif grubun CRP ve WBC değerleri diğer gruplardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). En yüksek PCT değerleri *Klebsiella pneumoniae* (10 ng/ml, IQR [1,9-50,1]) ve *Escherichia coli*'de (8,8 ng/ml, IQR [1,5-35,6]) gözlenmiştir. Gram negatif bakteri üremesini diğer olgulardan ayırmada PCT için eğri altında kalan alan 0,791 (%95 CI, 0,748-0,834) olarak bulunmuştur. Belirlenen 1,34 ng/ml cut-off değerinin negatif prediktif değeri %90 (%95 CI, 87-92) olarak hesaplanmıştır. Fermenter gram negatif grubun PCT ve CRP değeri nonfermenter gram negatif gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p_1=0,016$, $p_2=0,001$).

SONUÇ

Gram negatif bakteriyemilerde meydana gelen yüksek inflamatuvar cevap, yüksek PCT düzeylerinin ölçülmesine neden olmaktadır. En yüksek PCT düzeyleri fermenter gram negatiflere bağlı bakteriyemilerde ölçülmektedir. Gram negatif bakteriyemiyi dışlamada PCT, CRP'den daha başarılı bulunmuştur. Sepsis olgularında etken tahmininde biyobelirteçlerin kullanılması ampirik tedaviyi yönlendirici olacaktır.

Anahtar Kelimeler: bakteriyemi, C-reaktif protein, kan kültürü, lökosit sayısı, prokalsitonin

ABSTRACT

AIM

Blood culture is the gold standard test for detection of infectious microorganisms in patients with bacteremia; however, it results at the earlist after 48 hours. Therefore, it is aimed to investigate the use of procalcitonin (PCT) and other biological markers in the prediction of agents in blood culture.

MATERIALS AND METHODS

Blood culture results evaluated in Haydarpaşa Numune Hospital Microbiology Laboratory between 01.01.2016-01.01.2018 were divided into 5 groups as Gram negative, Gram positive, Yeast, Polymicrobial and Negative; simultaneously measured PCT (Finecare, China), C-reactive protein (CRP) (Archem Diagnostics, Turkey) levels and white blood cell count (WBC) (Abbott, USA) were investigated retrospectively together.

RESULTS

A total of 566 cases, 264 of which were positive for blood culture and 302 of which were negative, were included in the study. PCT levels of Gram negative group were significantly higher than Gram positive, Yeast and Negative groups (p=0,001). CRP and WBC values of Yeast and Negative groups were significantly lower than other groups (p<0,05). The highest PCT values were observed in *Klebsiella pneumoniae* (10 ng/ml, IQR [1,9-50,1]) and *Escherichia coli* (8,8 ng/ml, IQR [1,5-35,6]). In order to differentiate gram negative bacterial growth from other cases, the area under the curve for PCT was 0,791 (95% CI, 0,748-0,834). The negative predictive value of 1,34 ng/ml cut-off point was calculated as 90% (95% CI, 87-92). PCT and CRP values of fermenter gram negative group were significantly higher than nonfermenter gram negative group (p_1=0,016, p_2= 0,001).

CONCLUSION

High inflammatory response in gram negative bacteremia causes high PCT levels. The highest PCT levels are measured in bacteremia due to fermenter gram negatives. PCT was found to be more successful than CRP in the exclusion of gram negative bacteremia. The use of biomarkers in the prediction of agents in sepsis cases will guide empirical treatment.

Keywords: bacteremia, blood culture, C-reactive protein, leukocyte count, procalcitonin

2. GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis, enfeksiyona karşı inflamatuar ve antiinflamatuar yanıt ile birlikte, immünolojik olmayan kardiyovasküler, otonomik, nörolojik, hormonal, metabolik ve koagulatif sistemlerdeki modifikasyonlarla seyreden bir sendromdur. Enfeksiyona karşı ortaya çıkan bu bozulmuş konak cevabı hayatı tehdit edici organ disfonksiyonuna ve mortaliteye yol açabilir (1).

Tüm dünyada sepsis insidansı artmakta olup, dünya genelinde yıllık vaka sayısının 18 milyon, günlük ölüm sayısının ise yirmi bin civarında olduğu tahmin edilmektedir (2). Özellikle yatan hastalarda morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerinden biri olan bakteriyemi ve fungemilerin belirlenmesinde altın standart yöntem kan kültürüdür. Bunun yanında tanı ve takipte yardımcı birçok biyobelirteç kullanılmaktadır (3).

Prokalsitonin (PCT) kalsitoninin prohormonudur ve tiroid bezindeki C hücreleri tarafından sentezlenir. Bakteriyel enfeksiyon sırasında salınan endotoksin ve mediatörlere karşı üretilir. Sepsis yönetiminde dünya çapında en çok kullanılan biyobelirteçtir. PCT, sistemik bakteriyel enfeksiyonu öngörmek için yüksek hassasiyet ve özgüllüğe sahiptir (4).

C-reaktif protein (CRP), nonspesifik akut faz yanıtının bir parçasıdır ve inflamasyon, enfeksiyon ve doku hasarına bağlı olarak üretilir (4). CRP, enfeksiyonu teşhis etmek, hastanın antimikrobiyal tedaviye yanıtını değerlendirmek ve kritik hastaları taramak için klinikte en sık kullanılan inflamatuar belirteçlerden biridir (5).

Lökositler (beyaz kan hücresi) dolaşımda bulunan çekirdekli heterojen bir gruptur. Kandaki normal konsantrasyonları mikrolitre başına 4.000 ile 10.000 arasında değişir. Bağışıklık ve fagositozda, bu sebeple enfeksiyona karşı savunmada önemli bir rol oynar. Lökositler çeşitli tekniklerle, hem kantitatif hem de kalitatif olarak laboratuvarda değerlendirilebilir. En basit test lökosit sayısıdır (WBC). Lökositler özel olarak tasarlanmış kamaralarda veya otomatize cihazlarla sayılabilir (6).

Bakteriyemili hastalarda enfeksiyona sebep olan mikroorganizmanın tespiti için kan kültürü testi çalışılmaktadır. Kan kültürü, kan dolaşımında bulunan mikroorganizmanın tespitinde altın standart bir test olmasına rağmen en erken 24-48 saat arasında sonuçlanmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda kan kültürü sonucunun çıkmasına kadar geçen sürede etken tahmininde biyolojik belirteçlerin kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla yola çıkarak 01.01.2016-01.01.2018 tarihleri arasında Haydarpaşa Numune Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda değerlendirilen kan kültürü sonuçları, hastanın eş zamanlı ölçülen PCT, CRP düzeyleri ve lökosit sayıları ile birlikte retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

3. GENEL BİLGİLER

KAN KÜLTÜRÜ

Kan Kültürünün Klinik Önemi

Bakteriyemi kanda bakterilerin, fungemi kanda mantarların bulunmasıdır. Bu iki durum topluca septisemi olarak ifade edilir. Klinik çalışmalar, septiseminin sürekli veya aralıklı olabileceğini göstermektedir. Sürekli septisemi öncelikle intravasküler enfeksiyonlar (endokardit, septik tromboflebit, intravasküler kateter ile ilişkili enfeksiyonlar), sepsis ve septik şokta görülür. Aralıklı septisemi lokalize enfeksiyonu (akciğer, idrar yolu, yumuşak doku enfeksiyonu) olan hastalarda ortaya çıkar (7).

Bakteriyemilerin gram pozitif, gram negatif, anaerobik veya polimikrobiyal olarak sınıflandırılması, enfeksiyon kaynağının belirlenmesi ve tedavinin erken uygulanması için önemlidir. Bakteriyemiler; toplum veya hastane kaynaklı olmak üzere ikiye ayrılır (3).

Toplum kaynaklı bakteriyemi ve fungemiler sıklıkla sağlıklı bireylerde saptanmaktadır. Hastanın kendi florası kaynak olabilir (*S.aureus*'a bağlı bazı bakteriyemiler) ya da herhangi bir fokal enfeksiyon bölgesindeki mikroorganizmaların kan dolaşımına geçmesiyle de oluşabilir (*Streptococcus pnemoniae'*ya bağlı pnömoni) (3).

Hastane kaynaklı bakteriyemi ise hastaneye yatışın ilk 72 saatinden sonra saptanan bakteriyemiler olarak tanımlanır. Hastane kaynaklı bakteriyemi ve fungemilerin insidansı kateterizasyon, immünosupresif tedavi ve antibiyotik kullanımındaki artışa paralel olarak giderek artmaktadır (3).

Kontaminasyon

"Kontaminasyon", kanda mikroorganizma bulunmadığı halde kültürde üreme olmasıdır. Kontaminasyona yol açan en önemli neden, cilt florasında bulunan mikroorganizmaların kan kültürü alımı sırasında kan kültürü şişelerine inokülasyonudur. Kontaminant olarak kabul edilen başlıca cilt flora elemanları şunlardır: Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), *Bacillus* türleri (*B.anthracis* hariç), *Corynebacterium* türleri (JK hariç), *Propionibacterium* türleri, *Aerococcus* türleri, *Micrococcus* türleri (3).

Monomikrobiyal ve Polimikrobiyal Bakteriyemi

Monomikrobiyal bakteriyemide kan dolaşımı enfeksiyonunda tek bir etken bulunur. Bakteriyemiler genelde monomikrobiyaldir ve tek etken tespit edilir. Polimikrobiyal bakteriyemide ise kan dolaşımında birden fazla bakteri bulunur. Polimikrobiyal bakteriyemiler için en önemli risk faktörü diş çekimleridir. Etkenler arasında *P.aeruginosa* bulunuyorsa, mortalite artmaktadır. Polimikrobiyal üremelerde etkenlerin ayrı ayrı tanımlanması gerekir (2).

Kan Kültürü Örneklerinin Alınması

"Bir kan kültürü seti" tek bir damar girişimiyle alınan kanın dağıtıldığı kültür şişelerinin tamamıdır. Genelde bir kan kültürü seti iki kan kültürü şişesinden ve ideal olarak bir aerobik ve bir anaerobik şişeden oluşmalıdır (çocuk hastalar hariç).

Alınması gereken ideal kan kültürü seti sayısı hastanın klinik durumuna, şüphelenilen enfeksiyona ve tedavinin aciliyetine göre değişebilir. En az 2 set kan kültürü alınmalıdır. Kan kültürü örneklerinin peş peşe alınması ile 24 saat içinde farklı zamanlarda alınması arasında bir fark bulunmamaktadır. Sürekli bakteriyemi olasılığı yüksek veya akut hastalığı

olan hastalarda kan kültürlerinin iki ayrı damardan peş peşe alınması yeterlidir.

Erişkinlerde her kan kültürü seti için alınması gereken kan hacmi optimal 20-30 ml olmalıdır. Alınan kan miktarındaki her bir mililitrelik artış, etken mikroorganizmanın saptanma ihtimalini %3 oranında arttırır. Alınan kan miktarının yetersiz ya da fazla olması durumunda yalancı negatif sonuçlar elde edilebilir.

Yenidoğanlarda yeterli hacimde (en az 1 mL) kan inoküle edilmiş tek kan kültürü alınması yeterlidir. Çocuklarda, hastanın kilosu ve toplam kan hacmine göre alınabilecek en yüksek miktarda kan tek kan kültürü şişesine alınmalı; alınan kan miktarı, hastanın toplam kan hacminin %4-5'ini geçmemeli, %1'inden az olmamalıdır.

Ateş çıkmasından önceki 30-60 dakikalık dönem, kanda mikroorganizma konsantrasyonunun en yüksek olduğu dönemdir. Birçok hastada bu dönemin öngörülmesi mümkün olmadığından, ateş yükselmeye başladıktan hemen sonra ve antibiyotik tedavisi başlanmadan önce kan kültürü alınmalıdır. Eğer hasta antibiyotik tedavisi altında ise kanda antibiyotik konsantrasyonunun en düşük olduğu dönem (bir sonraki antibiyotik dozundan hemen önce) tercih edilmelidir.

Kan alınacak bölgenin cilt antisepsisi sağlanmalıdır. Erişkinlerde seçilen bölge önce %70 izopropil alkollü steril gazlı bez ile, sonra %1-2 iyod tentürü veya %10 povidon iyodin veya %2 klorheksidin glukonatlı steril gazlı bez ile silinir ve kuruması beklenir. Beklerken kan kültürü şişelerinin üst kapakları çıkartılır ve lastik tıpa %70'lik alkol veya %2 klorheksidin glukonat ile silinir. Seçilen bölge kuruduktan sonra mümkün olduğunca tekrar dokunulmadan kan alınır. Kan şişelere dağıtıldıktan sonra kanın pıhtılaşmasını engellemek için şişeler birkaç kere nazikçe ters-yüz edilir. Şişeler laboratuvara en geç iki saat içinde ulaştırılmalıdır (3).

Kan Kültürlerinin İnkübasyonu ve İncelenmesi

Genel kurallar:

Kan kültürleri, Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarının en önemli tanı testlerinden biridir. Bu nedenle yüksek derecede dikkat gerektirir. Otomatize sistem kullanılarak ya da görsel olarak izlenen kan kültürleri her vardiyada en az bir kez pozitiflik açısından değerlendirilmeli ve pozitif sinyal saptanır saptanmaz şişe çıkarılıp işleme alınmalıdır (2).

Kullanılan sistemden bağımsız olarak birçok klinik ya da teknik faktör etkenin saptanma olasılığını etkilemektedir. Klinik faktörler, kan kültürünün alınma şekli ve zamanı, alınan kan hacmi, alınan kan kültürü sayısı ve önceki antibiyotik kullanımıdır. Teknik faktörler ise inkübasyon süresi ve sıcaklığı, kullanılan besiyeri ve nötralizanlar ve besiyerinin çalkalanmasıdır (3).

Otomatize kan kültürü sistemleri ile inkübasyon:

Sürekli izlem sağlayan kan kültürü sistemleri için, genelde beş günlük bir inkübasyon süresi belirlenmiştir. Ancak, klinik olarak önemli izolatlarda genelde 3-4 gün gibi daha kısa sürelerde üreme gözlenir. Üreme saptanmayan şişelerde sonuç bildirilirken, kaç gün inkübasyondan sonra üreme saptanmadığı mutlaka belirtilmelidir. Örneğin, "24 saatte üreme saptanmadı", "72 saatte üreme saptanmadı", "5 günlük inkübasyon sonunda üreme olmadı" gibi (2).

Otomatize kan kültürü sistemlerinde farklı besiyeri formülasyonları kullanılmakta, aerobik ya da anaerobik birden fazla formülasyonun birlikte kullanılması etken saptanma olasılığını arttırmaktadır. Pediyatrik kan kültürü besiyerleri, güç üreyen mikroorganizmaları üretmede standart şişelere göre daha başarılıdır. Kan kültürü şişelerinde üreme olduğunda mikroorganizmanın metabolizması sonucu artan karbondioksit, pH değişikliğine neden olur. Bu pH değişikliği farklı sistemlerde şişe tabanında

renk değişikliğine, floresan sinyale ya da redoks farklılıklarına yol açar ve pozitiflikler saptanır (3).

Triptik soy besiyeri ve soy-kazein-pepton, otomatize kan kültürü şişelerinde en sık kullanılan temel besiyerleridir. Etken izolasyonunu arttırmak için eklenen sodyum polianetol sülfonat (SPS), aminoglikozitler başta olmak üzere birçok antibiyotiği, antibakteriyel faktörleri ve komplemanı inaktive ederek antifagositik etki oluşturur. SPS, bazı bakterilerin üremesini inhibe edebilir. Antibiyotiklerin inhibitör etkisini engellemek için reçine veya kömür nötralizan madde olarak eklenir. Antibiyotiği nötralize etme açısından reçine, kömüre göre daha üstündür (3).

Otomatize sistemlerde üreme olmayan şişelerden inkübasyon süresi sonunda kör pasaj yapılması önerilmez. Endokardit olgularında, antimikrobiyal tedavi alan hastalarda, dimorfik mantarların etken olduğu mantar enfeksiyonu şüphesi varlığında ya da güç üreyen bakteriler ile olan enfeksiyonlarda standart inkübasyon süresi içinde üreme saptanamayabilir. Bu durumda inkübasyon süresini uzatılmamalıdır. Bunun yerine, şişelerden bu mikroorganizmaların üretilmesini destekleyecek özel besiyerlerine pasaj yapılmalı ve pasajlar uygun koşullarda inkübe edilmelidir (3).

Pozitif kan kültürü şişelerinin değerlendirilmesi:

Tüm sinyal pozitif kültürler, mikroskopik inceleme sonucundan bağımsız olarak mutlaka katı besiyerlerine pasajlanmalıdır (2).

Pozitiflik veren kan kültürü şişesinden işlem yapmadan önce mutlaka şişe başlığı dezenfektan (%70 etanol/izopropil alkol) ile silinmeli ve kuruması beklenmelidir. Mikroskobik inceleme için 1-2 damla kan örneği alkolle temizlenmiş bir lama damlatılarak ince yayma preparatı hazırlanmalı ve boyama (Gram, akridin oranj, Giemsa, karbol fuksin, modifiye asit fast, vb.) yapılmalıdır (3). Gram boyama sonuçları hastanın kliniğine bildirilmelidir (2).

Kan kültürü üremelerinin değerlendirilmesi:

Kan kültüründe pozitiflik saptandığında yapılması gereken mikroorganizmanın izolasyonu ve tanımlanması ve etken/kontaminant ayrımıdır. Etken olarak değerlendirilen izolat tür düzeyinde tanımlanmalı ve antimikrobiyal duyarlılık testi (ADT) çalışılmalıdır (3).

Mikroorganizmanın izolasyonu ve tanımlaması:

Gram boyama sonucu ve laboratuvar politikasına göre manuel yöntemler, yarı otomatize/otomatize sistemler veya matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) ile hızlı tanımlama ve/veya hızlı antimikrobiyal duyarlılık testleri yapılabilir (3).

Bu yöntemler içinde MALDI-TOF MS tekniği, üreyen bakteri ve mayaların bir ekstraksiyon basamağını takiben oluşan proteinlerinin elektromanyetik alanda hızlandırılarak uçuş zamanına göre kütlelerinin belirlendiği ve elde edilen protein profilinin cihaz kütüphanesindeki mikroorganizmaların protein profilleriyle karşılaştırılarak sonuç verildiği bir tanımlama yöntemidir. Tanımlama süresi, rutin yöntemlere göre en az bir gün kısalmaktadır (2).

Etken/kontaminant ayrımı:

Kan kültürleri değerlendirilirken karşılaşılan en önemli sorun, etken/kontaminant ayrımının yapılmasıdır. Cilt florası elemanlarının hastanın birden fazla kan kültürü setinden sadece birinde üremesi ve hastanın bu

organizma ile enfeksiyonuna dair klinik veya mikrobiyolojik kanıtın bulunmaması durumunda kan kültürü üremesi kontaminasyon kabul edilir.

Kontaminasyon kan kültürleri için tür düzeyinde tanımlama yapılmamalı ve ADT çalışılmamalıdır. Ancak izolat, hastanın diğer kan kültürü setinde aynı etkenin izole edilmesi ihtimaline karşı, diğer kan kültürleri sonuçlanana kadar saklanmalıdır. Bu durumda her iki izolata da tür düzeyinde tanımlama ve ADT yapılmalı, sonuçlar aynı bulunmadığında kan kültürü üremesi kontaminasyon kabul edilmelidir (3).

Kan Kültürü Sonuçlarının Raporlanması

Kan kültürü sonuç raporu; Gram boyama, üreyen mikroorganizmanın tanımlaması ve ADT sonuçlarını içermeli, açıklayıcı ve anlaşılır olmalıdır.

Gram boyama sonuçlarında Gram boyanma özelliği (gram pozitif, gram negatif, gram değişken), morfoloji (basil, kokobasil, kok, pleomorfik basil, filamentöz basil, fuziform basil, maya, yalancı hif/hif vb.) ve dizilim şekli (küme kok, zincir kok, diplokok) bildirilmelidir.

Mikroorganizma tanımlama testleri sıklıkla duyarlılık testinden önce sonuçlanır. Bu durumda üreyen mikroorganizma ADT sonucu beklenmeden, bir ara rapor ile kliniğe bildirilmelidir. ADT sonucu tamamlandıktan sonra yazılan son raporda; set sayısı, sette yer alan şişe sayısı, şişe türleri (aerobik, anaerobik), şişelerdeki üreme saati ve örneğin alındığı bölgenin yer alması önerilir.

Kontaminasyon durumunda ürediği set, setteki şişe sayısı ve türü, üreme süresi ile örneğin alındığı yerin yazılması önerilir. Rapor “Bu izolat cilt flora elemanı olabilir, klinik olarak anlamlı kabul ediliyorsa değerlendirme için mikrobiyoloji laboratuvarı ile iletişime geçiniz” şeklinde düzenlenmelidir (3).

Kan Kültüründe Üreyen Mikroorganizmaların Klinik Önemi

Gram pozitif bakteriler:

Gram-pozitif koklar, bakterilerin heterojen bir grubudur. Ortak özellikleri küresel şekilleri, Gram boyanma özellikleri ve endospor bulundurmamalarıdır. Hidrojen peroksiti suya ve oksijene dönüştüren bir enzim olan katalazın varlığı veya yokluğu, çeşitli türleri ayırmak için kullanılmaktadır.

En önemli katalaz-pozitif tür *Staphylococcus*'tur. *Streptococcus ve Enterococcus* türleri ise katalaz negatiftir (7).

Stafilokok türleri:

Stafilokoklar, karakteristik olarak dizilimleri bir üzüm kümesine benzeyen gram-pozitif koklardır. İnsanda en sık hastalık yapan üyeleri *S.aureus* (en virülan ve en iyi bilinen üyesi), *S.epidermidis*, *S.haemolyticus*, *S.lugdunensis ve S.saprophyticus*'tur. Metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) hastanede yatan hastalarda ciddi enfeksiyonlar ürettiği ve hastane dışında sağlıklı çocuklarda ve yetişkinlerde enfeksiyon oluşturduğu için ünlüdür.

Staphylococcus aureus koagülaz enzimi üretir, türün diğer üyeleri (birkaç istisna hariç) koagülaz enzimi üretmemeleri nedeniyle KNS olarak adlandırılır. KNS'ler daha az virulandır ve genelde fırsatçı enfeksiyonlara neden olur.

Staphylococcus aureus bakteriyeminin yaygın bir nedenidir. Diğer etkenlerle olan bakteriyemilerde enfeksiyon odağı (örneğin, akciğer, idrar yolu, gastrointestinal sistem enfeksiyonu) çoğunlukla belli iken, *S.aureus* bakteriyemisinde hastalarının yaklaşık üçte birinde odak bulunamaz. *S.aureus* bakteriyemisi vakalarının %50'den fazlası cerrahi işlem sonrası veya kontamine olmuş bir intravasküler kateter kullanımından dolayı hastaneyle

ilişkili olarak meydana gelir. *S.aureus* bakteriyemisi, uzun süre devam eder ve kalp, kemik gibi diğer vücut bölgelerine yayılım gösterir.

Stafilokoklardaki peptidoglikan tabakası endotoksin benzeri aktiviteye sahiptir ve endojen pirojen üretimini, kompleman aktivasyonunu, monositlerden interlökin (IL)-1'in üretimini ve nötrofillerin toplanmasını uyarır (7).

Streptokok ve Enterokok türleri:

Streptokok ve enterokok türleri, zincir şeklinde dizilim gösterir. Çoğu tür, fakültatif anaeroptur, bazıları karbondioksit ile zenginleştirilmiş bir atmosferde (kapnofilik büyüme) üreyebilir.

Streptococcus pyogenes, toksik şok sendromu veya nekrotizan fasiit sırasında kana geçebilir. Viridans grubu streptokoklar endokardit etkeni olabilir. Pnömonili hastaların %25-30'unda, menenjitli hastaların %80'inde *S.pneumoniae* kanda tespit edilebilir.

Enterokoklar, özellikle hastanede yatmakta olan hastalarda önemli patojenlerdir. En sık görülen enfeksiyon yeri idrar yoludur ve genelde kateterizasyon veya enstrümantasyon ile ilişkilidir. Kanda enterokok tespit edilmesi, idrar yolu veya peritonda olan enfeksiyonun yayılımı veya endokardit sebebiyle olabilir (7).

Gram negatif bakteriler:

Endotoksin:

Endotoksin, aerobik ve bazı anaerobik bakterilerde bulunan bir virülans faktörüdür. Etkinliği hücre duvarının bir komponenti olan LPS'nin hücre parçalanması sırasında ortaya çıkan Lipid A bileşenine bağlıdır. Gram negatif bakteriyel enfeksiyonlardaki sistemik belirtilerin çoğu endotoksin

tarafından başlatılmaktadır: Kompleman aktivasyonu, sitokin salınımı, lökositoz, trombositopeni, dissemine intravasküler koagülasyon (DİK), ateş, azalmış periferik dolaşım, şok ve ölüm (7).

Enterobacterales:

Enterobacterales takımının üyeleri orta büyüklükte, spor oluşturmayan, gram negatif basillerdir. Bu takımın üyeleri basit beslenme gereksinimlerine sahip olup glikozu fermente, nitratı redükte eden; katalaz pozitif, oksidaz negatif (*Plesiomonas spp.*hariç) fermenter gram negatif basillerdir. Sitokrom oksidaz aktivitesinin yokluğu çok önemli bir karakteristiktir, diğer fermenter ve nonfermenter birçok bakteriden ayrımlarını sağlar (7).

Escherichia coli:

Gastroenterit, idrar yolu enfeksiyonu (İYE) menenjit ve kan dolaşımı enfeksiyonu gibi birçok hastalığın etkenidir. *E.coli* gibi gram negatif basillerle meydana gelen bakteriyemiler genelde gastrointestinal enfeksiyon veya İYE kaynaklıdır. *E.coli* bakteriyemisinin mortalitesi immün yetmezlikli hastalarda ve primer enfeksiyon yeri batın içi veya santral sinir sisteminde ise çok yüksektir (7).

***Klebsiella* türleri:**

Klebsiella türünün üyeleri izole edilen kolonilerin mukoid görünümünden ve organizmanın in vivo artmış virülansından sorumlu önemli bir kapsüle sahiptir (7). *K.pneumoniae* alkolikler, diyabeti ve kronik obstruktif akciğer hastalığı olanlarda akciğer enfeksiyonu yapmaktadır. *K.pneumoniae* ayrıca enterit, menenjit, İYE, septisemi gibi ekstrapulmoner birçok hastalığa sebep olur. *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz (KPC) üreten *K.pneumoniae* suşları hastanelerde hızla yayılmıştır ve bu bakteriler

penisilin ve sefalosporinlerle birlikte karbapenem antibiyotiklere (ertapenem, meropenem, imipenem vb.) dirençlidir (8).

Nonfermenter gram negatif basiller:

Nonfermenter gram negatif basiller, karbonhidratları enerji kaynağı olarak kullanmayan ve onları fermentasyon dışı metabolik yollarla yıkan, aerop ve spor oluşturmayan basillerdir (8).

Pseudomonas türleri:

Pseudomonas türleri geniş heterojen bir nonfermenter bakteri grubudur. *P.aeruginosa* en önemli üyesidir. *Pseudomonas* enfeksiyonları genelde fırsatçıdır ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanmış ve intestinal florası baskılanmış veya immün yetmezlikli hastalarda meydana gelir.

Pseudomonas türleri, solunum yolu, deri, idrar yolu, kulak, göz enfeksiyonları ve bakteriyemiye neden olur. *P.aeruginosa'*nın etken olduğu bakteriyemi klinik olarak diğer gram negatiflerin etken olduğu bakteriyemilerden ayırt edilemez; ancak genelde immün yetmezlikli hastalarda enfeksiyon oluşturması, antibiyotiğe dirençli suşlar ve doğal virülansı nedeniyle mortalite yüksektir (7).

***Acinetobacter* türleri:**

Acinetobacter türleri, *Moraxellaceae* ailesinin üyesi olan hareketsiz, oksidaz negatif, gram negatif kokobasillerdir. *A.baumannii* klinik olarak en önemli üyesidir ve çoklu ilaç dirençli veya tüm ilaçlara dirençli suşlarla nozokomiyal salgınlar yapar. Hem toplumda hem hastanede deri ve akciğer enfeksiyonları veya sepsise neden olabilir (8).

Mayalar:

Mantarlar morfolojik olarak basitçe sınıflanacak olursa küfler ve mayalar olmak üzere ikiye ayrılır. *Candida* spp. maya grubunda olup fırsatçı fungal patojenlerin en önemlisidir. Santral kateterle ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarında en sık üçüncü etkendir. *Candida albicans* klinik örneklerden en sık izole edilen mayadır (7).

SEPSİS

Sepsis; bir enfeksiyon ajanına karşı, endojen faktörler tarafından önemli ölçüde arttırılmış çok yönlü bir konak yanıtıdır. Sepsisin; prognostik önemi olan kardiyovasküler, nöronal, otonomik, hormonal, biyoenerjetik, metabolik, pıhtılaştırıcı sistemler gibi immünolojik olmayan yollarda majör değişiklerle birlikte, hem proinflamatuar hem antiinflamatuar tepkilerin erken aktivasyonunu içerdiği kabul edilmektedir.

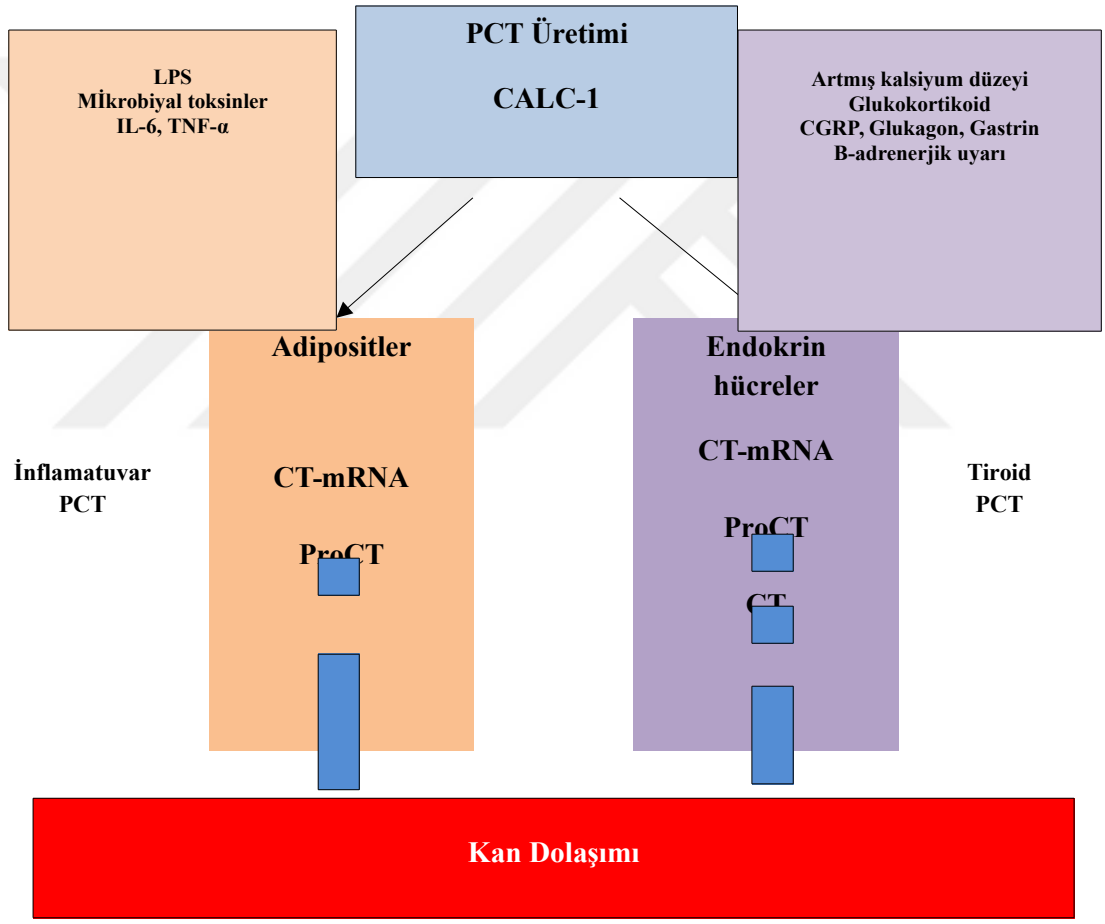
European Society of Intensive Care Medicineve Society of Critical Care Medicine'nin birlikte düzenlediği Sepsis-3 (2016) toplantısında sepsis "enfeksiyona karşı bozulmuş konak yanıtının neden olduğu hayatı tehdit eden organ disfonksiyonu" şeklinde tanımlanmıştır. Bu yeni tanım, enfeksiyona karşı hemostatik olmayan yanıtın önceliğine, basit bir enfeksiyon aşırı hale geldiğinde oluşan potansiyel ölümcül duruma ve acil tanı koyma ihtiyacına vurgulama yapmaktadır (9).

PROKALSİTONİN

Kalsitoninin hormonunun öncüsü olan PCT, 14,5 kDa moleküler ağırlığında 116 aminoasitten oluşan bir peptiddir. PCT, 57 aminoasitli amino uç, 33 aminoasitli immatür kalsitonin ve 21 aminoasitli katakalsin olarak da

bilinen Calcitonin Carboxyl-terminus Peptide-1 (CCP-1) olmak üzere 3 parçadan oluşur.

Üretimi 11. kromozom üzerindeki calcitonin 1 geni (CALC-1) tarafından yönetilmektedir. Bu genin ürünü olan prePCT, PCT oluşturmak ve en sonunda kalsitonin molekülüne dönmek üzere proteolize uğramaktadır. CALC-1 geninin transkripsiyon ve translasyonu tiroid bezinin C hücrelerinde, daha az olarak diğer nöroendokrin hücrelerde gerçekleşir.



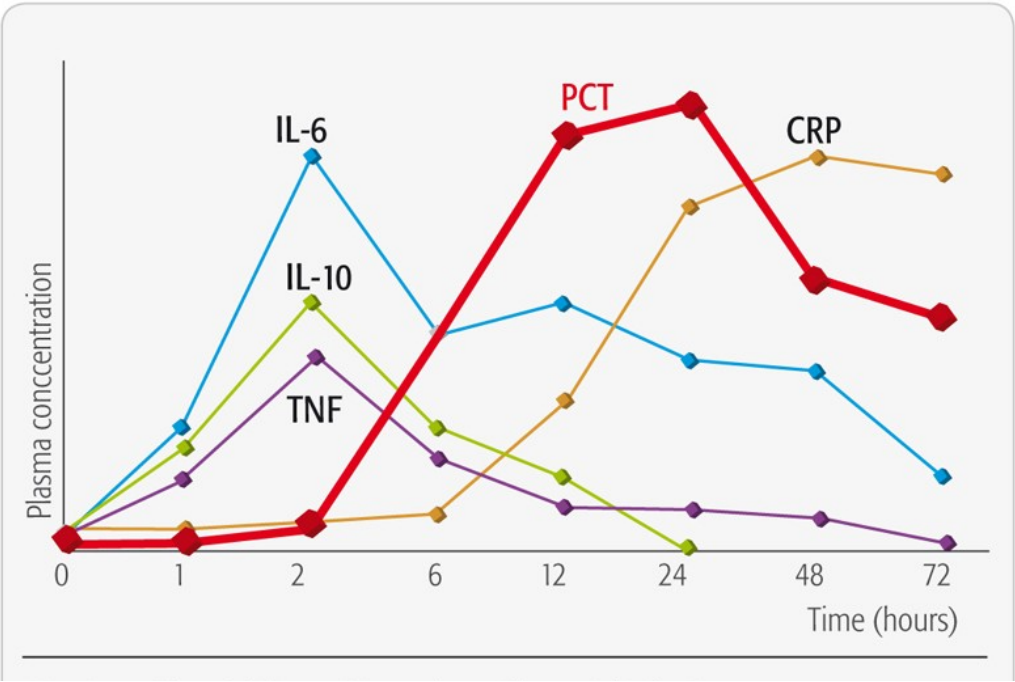
Şekil 1: PCT'nin çeşitli dokular tarafından üretim aşamaları (10)

Bununla birlikte, IL-6, tümör nekrozis faktör-α (TNF-α) ve IL-1β aracılığıyla bakteriyel enfeksiyona cevap olarak tüm parankimal dokularda üretimi aktive olur. Bu diğer dokular prokalsitonini kalsitonine parçalayamaz, bu da birikimine yol açar (Şekil 1). PCT üretimi, viral enfeksiyonlar sırasında

salınan interferon-γ tarafından azaltılır; bu da PCT'nin bakteriyel enfeksiyona özgü bir belirteç olmasını sağlar.

Sağlıklı kişilerde serum PCT konsantrasyonu 0,1 µg/ml'nin altındadır. Bakteriyel enfeksiyon varlığında PCT artar ve bu artış enfeksiyonun ciddiyetiyle korelasyon gösterir. Lokalize enfeksiyona sahip hastalarda, sepsis ve septik şokla karşılaştırıldığında PCT düzeyinde daha az yükselmeler gözlenmektedir. PCT'nin azalan konsantrasyonu enfeksiyonun gerilediğini gösterir.

Prokalsitonin yükselmeye başladıktan sonra 6-12 saat arasında tepe noktasına ulaşır, yarı ömrü 24 saattir (Şekil 2). Bu faydalı kinetik profil ve bakteriyel enfeksiyona özgü duyarlılık ve özgüllük, tanı ve tedavi takibinde kullanılmak üzere PCT'yi uygun hale getirmektedir. PCT ölçümü için kullanılan geçerli tüm testler, immunoassay tekniklerini kullanmaktadır.



Şekil 2: Bakteriyel enfeksiyon sırasında biyobelirteçlerin kinetik profilleri (11)

Prokalsitonin; bakteriyel enfeksiyon tanısı, bakteriyel pnömoninin viral pnömoni ve kronik obstrüktif akciğer hastalığından ayırt edilmesi ve

sepsis teşhisine yardımcı bir biyobelirteç olarak kullanılır. PCT ölçümünün ana endikasyonu bakteriyel enfeksiyon tanısı ve antibiyotik tedavi rehberliğidir.

Bakteriyel enfeksiyon dışında PCT'yi yükselten nedenler majör cerrahi, ciddi travma veya yanık ve uzamış kardiyolojik şoktur. Bununla birlikte bu durumlarda enfeksiyon olmadığı için diğer ölçümlerde PCT düzeylerinin düştüğü gözlenebilir. Fungal ve malaryal enfeksiyonlar da sitokin salınımını uyararak PCT düzeyini yükseltir. Medüller tiroid kanseri ve akciğer küçük hücreli kanseri olan hastalarda paraneoplastik sendrom nedeniyle yüksek PCT üretimi olur. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda, normal sınır değerden yüksek PCT değerleri gözlenir, bu düzeyler diyaliz sonrasında düşer.

Sepsis tanısı, bazı hasta ve durumlarda oldukça zordur. Erken tanı terapötik müdahalelerin zamanında başlamasını sağlamakta, gecikme ise sepsise bağlı morbidite ve mortaliteye yol açmaktadır. PCT düzeyinin takibi bu noktada önemli hale gelmektedir (Şekil 3).

Prokalsitonin değeri rehberliğinde antibiyoterapi için kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır, hem antibiyotik başlanması hem de antibiyotiğin sonlanması kararında PCT önemli bir rol oynamaktadır (12).



Şekil 3: PCT değerlerinin yorumlanması (12)

C-REAKTİF PROTEİN

C-reaktif protein, Tillet ve Francis tarafından 1930 yılında pnömokok pnömonisi olan hastalarda keşfedilmiştir. CRP adını, *Streptococcus pneumoniae* bakterisinin hücre duvarındaki C-polisakkariti ile reaksiyona girmesi nedeniyle almıştır. Orijinal olarak CRP, Quellung reaksiyonu ile C-polisakkaritinin serumda presipite olması kullanılarak, kalitatif olarak ölçülmüştür. Artık daha kesin ölçüm metodlarıyla kantitatif olarak ölçülebilmektedir (13).

C-reaktif protein, doğal bağışıklık sisteminin parçalarından olan kalıp tanıma reseptörlerine ait pentraksin proteinlerinin bir üyesi olan nonspesifik bir akut faz reaktanıdır. CRP, kompleman bağlanması ve makrofaj fagositozuna yardım ve inflamatuar sitokinlere cevap olarak karaciğerde üretilir ve sentezlenir. Bu nedenle, CRP'nin önemli görevlerinden biri, endoksemi sırasında olduğu gibi bazı yabancı patojenlerin tanınması ve

elimine edilmesidir. Nekrotik ve apoptotik hücrelerin temizlenmesine yardım eder. Daha genel olarak CRP, doku iltihabı ve hasarına cevap olarak oluşan; IL-6, IL-1 ve TNF-α gibi sitokinlerin salınmasıyla yükselen akut faz reaktanlarından biridir (13).

C-reaktif protein'in yükselmesinin birçok nedeni vardır. Enfeksiyöz veya non-enfeksiyöz akut ve kronik durumlar buna sebep olabilir. Bunun yanında yükselmiş CRP değerleri genelde enfeksiyonla ilişkilidir (14). Kandaki CRP konsantrasyonu; inflamatuar bir uyaranı takiben 4-6 saat içinde yükselmeye başlar, her 8 saatte bir 2 katına çıkar ve 36-50. saatler arası tepe noktasına ulaşır (Şekil 2). Yarı ömrü 19 saattir. Konsantrasyonunun; renal replasman tedavisi, sistemik steroid ve nötropeniden etkilenmediği düşünülmektedir. CRP testi ucuz bir testtir, bu nedenle birçok merkezde kullanılabilir. CRP'nin düşmesi ciddi enfeksiyonu olan hastalarda iyileşmeyi ve daha iyi bir prognozu gösterir (12).

LÖKOSİT SAYISI

Lökositler (beyaz kan hücresi) dolaşımda bulunan çekirdekli heterojen bir gruptur (6). Lökositlerin hayat döngüsü; kemik iliğinde gelişim, farklılaşma ve depolanma, damar bulunan bölgelere göç etme ve dokulara geçmeyi içerir. Lökositler kemik iliğinde olgunlaştığında %80-90'ı burada depolanır, bu sayede gerektiğinde saatler içinde kanda hızla yükselir. Lökosit sayısının artmasının lösemi, lenfoma, miyeloproliferatif hastalıklar gibi malign veya enfeksiyon, ameliyat, stres, yanık, egzersiz, emosyonel stres, sigara, obezite, kronik inflamatuar hastalık ve ilaçlar gibi malign olmayan sebepleri olabilir (15).

Lökositler bağışıklık ve fagositozda, bu sebeple enfeksiyona karşı savunmada önemli bir rol oynamaktadır (6). Lökositoz, enfeksiyonun önemli işaretçilerinden biridir. Bakteriyemide CRP ve prokalsitonin kadar öngörü düzeyi yüksek olmasa da lökositoz genelde tabloya eşlik eder (15). Lökositler çeşitli tekniklerle, hem kantitatif hem de kalitatif olarak laboratuvarda

değerlendirilir. En basit test lökosit sayısıdır. Lökositler özel olarak tasarlanmış kamaralarda veya otomatize cihazlarla sayılabilir (6).

4. GEREÇ ve YÖNTEMLER

ARAŞTIRMANIN TASARIMI

Bu çalışma, kan kültüründe üreyen mikroorganizmanın erken tahmininde prokalsitonin, CRP ve WBC'nin kullanılabilirliğinin araştırıldığı metodolojik bir araştırmadır. Bu metodolojik araştırmanın tasarımı, Bossuyt ve ark. tarafından yapılan *'STARD 2015: An Updated List of Essential Items for Reporting Diagnostic Accuracy Studies'* çalışması referans alınarak Enhancing the Quality and Transparency of Research (EQUATOR) kılavuzlarından STARD kılavuzuna uygundur (16).

Hastaların verileri Helsinki Bildirgesi'ne uyularak, elektronik veri sisteminden retrospektif olarak incelenmiştir (17).

Örneklem büyüklüğü Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, Version 3.01 (www.OpenEpi.com, updated 2013/04/06, accessed 2018/01/04) programı kullanılarak, tip 1 hata %5 ve power %90 olacak şekilde en az 111 hasta verisi olarak hesaplanmıştır.

Çalışmanın örneklemi Haydarpaşa Numune Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 01.01.2016-01.01.2018 tarihleri arasında kan kültürü, PCT, CRP ve WBC testleri eş zamanlı olarak çalışılmış bütün hastalardır.

Araştırmanın bağımsız değişkeni kan kültürü sonucu, bağımlı değişkenleri ise PCT, CRP ve WBC değerleridir.

Herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

ARAŞTIRMANIN ZAMAN ÇİZELGESİ

Çalışmanın Etik Kurul onayı için Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'na 05.02.2018 tarihinde başvuru yapılmıştır. Etik kurul onayı (Bkz. EK 2) 12.02.2018 tarihli toplantıda HNEAH-KAEK2018/KK/20 karar numarası ile alınmıştır. Çalışmaya etik kurul onay tarihinden bir ay sonraki tarih olan 20.03.2018 tarihinde başlanmıştır. Verilerin taranması 01.09.2018 tarihinde tamamlanmıştır.

Tablo1: Araştırmanın zaman çizelgesi

Sıra	Aşamalar	01.12.2017	15.12.2017	12.02.2018	19.03.2018	01.04.2018	01.09.2018	30.10.2018	24.04.2019	05.07.2019
1	Literatür Taranması	■					■	■		
2	Tez Konusunun Belirlenmesi		■							
3	Etik Kurul Onayı			■						
4	SBÜ Akademik Kurul Onayı				■					
5	Verilerin Taranması					■				
6	Tez Yazımı						■	■	■	■
7	Verilerin İstatistik Analizi							■	■	
8	Tezin Teslimi									■

HASTA POPÜLASYONU

Çalışmaya dahil edilen hastaların verileri, bir elektronik veri tabanı olan ALIS Laboratuvar Bilgi Sistemi (sürüm:8.66, Ventura, Türkiye)'nden sistematik olarak toplanıp retrospektif olarak incelenmiştir.

Hastanın dosya numarası, yaşı, bulunduğu servis, kan kültürü sonucu (pozitif veya negatif), pozitif kan kültüründe üreyen mikroorganizmanın cinsi ve türü, her test için kan alınma tarih ve saati, kan PCT düzeyi (ng/ml), CRP düzeyi (mg/dl) ve WBC değeri (10^3/µl) gibi bilgilere elektronik veri tabanından ulaşılmıştır.

Hastanın klinik durumunun bilgisine hastanemizde kullanılan bir diğer elektronik veri tabanı olan HIS (sürüm:5.5, Ventura, Türkiye) sisteminden ulaşılmaya çalışılmış, hastaların tanı ve epikrizlerine ulaşılmış; fakat sepsis veya septik şokun klinik tanısı, bakteriyemili hastalarda enfeksiyonun kaynağı veya antibiyotik kullanımı gibi bilgilere ulaşılamamıştır.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- 18 yaş ve üzeri olmak
- Araştırılan tarihler arasında hastanın eş zamanlı olarak çalışılmış kan kültürü testi, PCT, CRP ve WBC değerlerinin olması

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

- 18 yaş altı hastalar
- Kontaminasyon kan kültürü sonuçları
- Deri flora elemanlarının etken olduğu bakteriyemiler (PCT'nin etken/kontaminan ayrımında kullanılabileceğini belirten yayınlar nedeniyle)
- Kan kültürü ve biyolojik belirteçlerin tespiti için alınan kan örneklerinin arasında 24 saatten fazla fark olan hastalar (belirteçlerin yarılanma ömrü nedeniyle)
- Malign tümör öyküsü (tiroid karsinomu, akciğer kanseri)
- Lenfoproliferatif hastalık, immünsüpresyon

- İmmün sistem hastalığı öyküsü (Still hastalığı, romatoid artrit, ankilozan spondilit, sistemik lupus eritematozus, vaskülit, multipl skleroz)
- Hamilelik
- Bir hastanın aynı etken mikroorganizmanın ürediği diğer kan kültürleri

Aynı hastanın farklı etkenle olan kan kültürü üremeleri farklı bakteriyemi epizotları olarak değerlendirilerek çalışmaya alınmıştır.

Araştırma yapılan 2 yıllık süre içerinde gönderilen 14.477 kan kültürü örneği arasından dahil edilme ve edilmeme kurallarına uygun 566 kan kültürü sonucu çalışmaya dahil edilmiştir (Şekil 4).

Hastalar bulundukları kliniklere göre dört gruba ayrılmıştır.

Dahili Klinikler: Acil, Dahiliye, Dermatoloji, Gastroenteroloji, Göğüs Hastalıkları, Nefroloji, Nöroloji ve Psikiyatri klinikleri

Cerrahi Klinikler: Beyin Cerrahisi, Genel Cerrahi, Kadın Doğum, Kulak Burun Boğaz, Ortopedi, Üroloji klinikleri

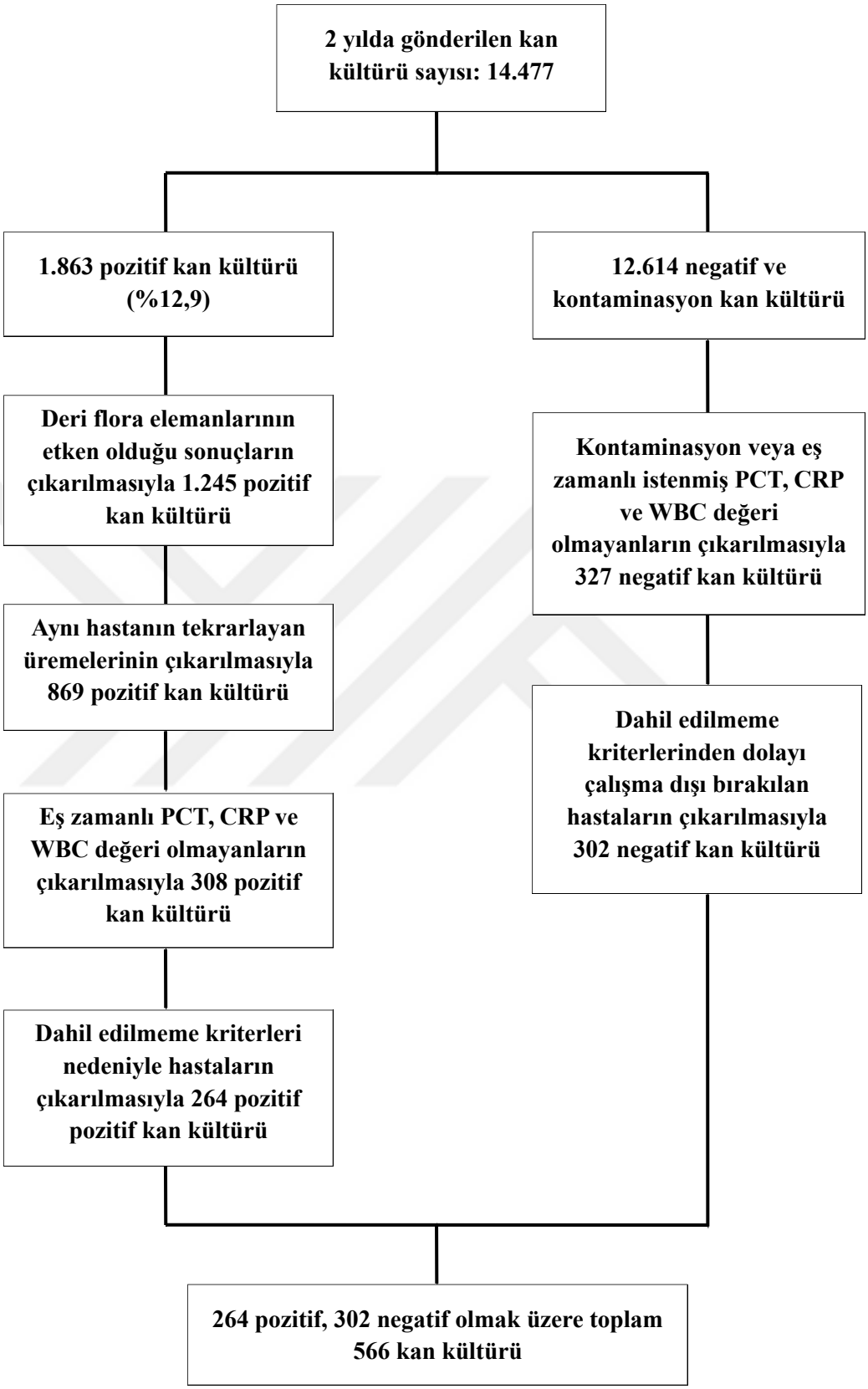
Yoğun Bakım: Anestezi ve Reanimasyon ve Palyatif Tedavi klinikleri

Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği

Hastanın bir veya daha fazla kan kültüründe üreme olması bakteriyemi olarak değerlendirilmiş; tek kan kültürü setinde deri flora etkenleri üremesi ise kontaminasyon olarak kabul edilmiştir.

Hastalar kan kültürü sonucuna göre 5 gruba ayrılmıştır: Gram negatif, Gram pozitif, Maya, Polimikrobiyal, Negatif.

Gram negatif üremeler fermenter ve nonfermenter gram negatif basilleri, gram pozitif üremeler *S.aureus*, streptokok, enterokokları; mayalar ise *C. albicans* ve non-albicans *Candida sp.*'leri içermektedir. Her kan kültürü grubu için, PCT ve diğer belirteçlerin ölçülen düzeyleri karşılaştırılmıştır.



Şekil 4: Çalışmaya dahil edilen hastaların belirlenmesinde kullanılan akış çizelgesi

KAN KÜLTÜRÜNÜN DEĞERLENDİRİLMESİ

Laboratuvarın rutin çalışma sisteminde; bakteriyemi veya sepsis şüpheli bir hastadan klinisyenin tercihine göre 1-3 set kan kültürü örneği gönderilmektedir. Her BACT/ALERT® şişesi steril bir kültür vasatı ile birlikte adsorban polimerik boncuklar içerir. Aerobik kan kültürü şişeleri olarak 30 ml takviyeli kompleks besiyeri bulunduran BacT/ALERT® FA Plus (bioMerieux, Fransa), anaerobik kan kültürü şişeleri olarak 40 ml takviyeli kompleks besiyeri içeren BacT/ALERT®FN Plus (bioMerieux, Fransa) kullanılmaktadır.

Kan kültürü şişeleri, BacT/ALERT 3D otomatize hemokültür cihazında (bioMerieux, Fransa) 5 gün süreyle inkübe edilmektedir. Bu süre içinde üreme sinyali vermeyen şişeler kan kültürü üremesi negatif olarak değerlendirilmektedir. Pozitif sinyal veren şişelerden doğrudan Gram boyama hazırlanıp, koyun kanlı agar, çikolata agar ve MacConkey agar besiyerlerine tek koloni düşürme tekniği ile ekim yapılmaktadır. Ekim yapılan plaklar normal atmosfer şartlarında, 35-37°C'de 24-48 saat süreyle inkübe edilmektedir. Plaklar günlük olarak kontrol edilmekte ve üreyen mikroorganizmalar tür ve cins düzeyinde tanımlanmaktadır.

Kan Kültüründe Üreyen Mikroorganizmaların Tanımlanması

Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların tanımlanması MALDI-TOF MS yöntemiyle (VITEK-MS, bioMerieux, Fransa) üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

PROKALSİTONİN DÜZEYİNİN ÖLÇÜLMESİ

Prokalsitonin düzeyinin belirlenmesinde floresan immunoassay yöntemi (PCT Rapid Quantitative Test, Finecare, Çin) üretici firmanın talimatları doğrultusunda kullanılmıştır. Bu PCT testi tam kan, serum ve plazmada çalışılabilmekte ve kantitatif sonuç vermektedir. PCT testi için kan örneği jel ve pıhtı aktivatörü bulunan 5 ml'lik tüpe alınmakta, 4000 g'de 10 dakika santrifüj edilip serum elde edildikten sonra bekletilmeden çalışılmaktadır.

Prokalsitonin testinin tespit etme aralığı 0,1-100 ng/ml'dir. Pozitiflik sınır değeri 0,5 ng/ml'dir (Tablo 2). Bu test; örnek test kuyucuğuna eklendiğinde, floresan-işaretli dedektör anti-PCT antikorunun kan örneğindeki PCT antijenine bağlandığı bir sandviç immün deteksiyon metodudur. Örnek karışımı test şeridinin nitroselüloz matriksinde kapiller hareketle ilerlediğinde, dedektör antikor-PCT kompleksi, test şeridinin üzerine sabitlenmiş anti-PCT antikoruyla yakalanır. Kan örneğinde ne kadar çok PCT antijeni varsa o kadar çok kompleks test şeridinde toplanır. Dedektör antikorun floresan sinyal şiddeti, yakalanan PCT miktarını yansıtır ve kan örneğindeki PCT konsantrasyonunu verir.

C-REAKTİF PROTEİN DÜZEYİNİN ÖLÇÜLMESİ

C-reaktif protein düzeyinin ölçülmesinde immünotürbidimetrik yöntem (CRP WR Turbidimetric, Archem Diagnostics, Türkiye) üretici firmanın talimatları doğrultusunda kullanılmıştır. Bu CRP testi serumda çalışılmaktadır. CRP testi için kan örneği jel ve pıhtı aktivatörü bulunan 5 ml'lik tüpe alınmakta, 4000 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra bekletilmeden işleme alınmaktadır. CRP testinin tespit etme aralığı 0,2-35 mg/dl değerleri arasındadır. Pozitiflik sınır değeri 0,5 mg/dl'dir (Tablo 2).

LÖKOSİT SAYISININ ÖLÇÜLMESİ

Lökosit sayısının belirlenmesinde akış sitometresi ve elektrik empedansı yöntemi (CELL-DYN 3700SL, Abbott, ABD) üretici firmanın talimatları doğrultusunda kullanılmıştır. Testin normal aralığı 4,0-10,2 10^3/ul'dir (Tablo 2). K2EDTA içeren 3 ml'lik tüpe alınan kan örneği bekletilmeden çalışılmaktadır.

Tablo2: Biyobelirteç düzeylerinin yorumlanması

PCT düzeyi (ng/ml)	**Yorum**
<0,5	Normal / PCT negatif
≥0,5	PCT pozitif
0,5-<2	Sistemik enfeksiyon veya ciddi sistemik enfeksiyon orta riski
2-<10	Sistemik enfeksiyon veya ciddi sistemik enfeksiyon yüksek riski
≥10	Ciddi sistemik enfeksiyon
CRP düzeyi (mg/dl)	
<0,5	Normal / CRP negatif
≥0,5	CRP pozitif
WBC düzeyi (10^3/ul)	
<4	Lökopeni
4,0-10,2	Normal
>10,2	Lökositoz

İSTATİSTİKSEL İNCELEMELER

Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizi için IBM SPSS Statistics 23 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanılmıştır.

Araştırılan parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiş, normal dağılıma uyan veriler ortalama (mean) ve standart sapma ile normal dağılıma uymayan veriler ise ortanca (median) ve çeyrekler arası aralık (IQR) veya minimum-maksimum değer ile birlikte verilmiştir.

Normal dağılıma uymayan iki grubun verisinin karşılaştırılmasında Mann-Whitney *U* testi, üç veya üçten fazla grubun verisinin karşılaştırılmasında ise Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırılan gruplarda, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespitinde Mann-Whitney *U* testi kullanılmıştır.

Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki Kare testi ve Continuity (Yates) Düzeltmesi kullanılmıştır.

PCT, CRP ve WBC'nin tanısal performansı, Delong ve ark.'nın metodu kullanılarak Received Operatör Characteristic (ROC) eğrisi ile değerlendirilmiş ve en uygun kesim noktası (cut-off) en yüksek duyarlılık ve özgüllüğün toplamının bulunduğu noktalar olarak belirlenmiştir. Eğri altında kalan alan (AUC) ve standart hata (SE) hesaplanmıştır. AUC; >0,9 ise mükemmel, 0,8-0,9 ise çok iyi, 0,7-0,8 ise iyi, 0,6-0,7 ise orta ve <0,6 zayıf olarak değerlendirilmiştir (18).

İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir. Belirlenen cut-off değerleri için duyarlılık (sensitivite), özgüllük (spesifite), pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD), doğruluk (keskinlik-accuracy), diyagnostik odds ratio (DOR), Youden indeksi (J) ve %95 güven aralığı (CI) hesaplamaları yapılmıştır. Testlerin tanısal performansları MedCalc Easy-to-Use Statistical Software, Version 19 (https:/www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php, updated 2019/04/19, accessed 2019/05/07) ile hesaplanmıştır.

Tablo3: Tanı testinin değerlendirilmesi

		Referans Test		
		Hasta (+)	**Hasta (-)**	**Toplam**
Tanı Testi	**Hasta (+)**	**a (GP)**	**b (YP)**	**a+b**
	Hasta (-)	**c (YN)**	**d (GN)**	**c+d**
	Toplam	**a+c**	**b+d**	**a+b+c+d**

GP:Gerçek Pozitif, GN: Gerçek Negatif, YP: Yalancı Pozitif, YN: Yalancı Negatif

Duyarlılık: Gerçek hastalar içinden testin hastaları belirleyebilme özelliğidir.

Duyarlılık= a/(a+c) = (GP)/(GP+YN)

Özgüllük: Gerçek sağlamlar içinden testin sağlamları belirleyebilme özelliğidir.

Özgüllük= d/(d+b) = (GN)/(GN+YP)

PPD: Test pozitif (hasta) sonuç verdiği zaman, olgunun gerçekten pozitif (hasta) olma olasılığıdır.

PPD= a/(a+b) = (GP)/(GP+YP)

NPD: Test negatif (sağlam) sonuç verdiği zaman, olgunun gerçekten negatif (sağlam) olma olasılığıdır.

NPD= d/(d+c) = GN/(GN+YN)

Doğruluk: Testin hasta ve sağlam olarak toplam doğru tanı oranına "doğruluk" denir.

Doğruluk= (a+d)/(a+b+c+d) = (GP+GN)/(GP+YP+YN+GN)

J: Youden indeksi iki tanı testinin güçlerini karşılaştırmak için kullanılır. J değeri; -1 ile +1 arasında değişir. Sıfırdan küçük ise, testin tanısal gücü olmadığının göstergesi olacaktır. İki ayrı tanı testinin güçleri kıyaslanırken, J değeri daha büyük olan tanı testinin kabaca daha etkin olduğu söylenebilir.

J= (Duyarlılık+Özgüllük)-1

DOR: Diyagnostik prosedürlerin ayırıcı gücünün tahmininde ve iki veya daha fazla tanı testinin diyagnostik doğruluklarının karşılaştırılmasında kullanılır. DOR, hasta kişilerin pozitif olma olasılığının sağlam kişilerin pozitif olma olasılığına oranıdır. DOR'un 1 olması hasta olanlar ve olmayanlar için test sonucunun pozitif çıkma ihtimalinin eşit olduğunu gösterir; 1'den büyük olması hastalarda, 1'den küçük olması ise hasta olmayanlarda test sonucunun pozitif çıkma olasığının daha yüksek olduğu anlamına gelir.

$$DOR = (a/c)/(b/d) = (GP/YN)/(YP/GN)$$

5. BULGULAR

DEMOGRAFİK VERİLER

Bu çalışma 1 Ocak 2016 -1 Ocak 2018 tarihleri arasında yaşları 18 ile 97 arasında olan, 261'i (%55) erkek ve 210'u (%45) kadın olmak üzere toplam 471 hasta ve bu hastalarından sonuçlarıyla birlikte 566 olgu üzerinde yapılmıştır. Hastaların demografik bilgileri Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4: Hastaların demografik özelliklerine göre dağılımı

Yaş (yıl)		**Hasta sayısı**	**Median**	**Min-Max**
		471	62,3	18-97
Cinsiyet		**Hasta sayısı**	**Yüzde (%)**	
	Erkek	261	55	
	Kadın	210	45	
	Toplam	471	100	

Min: en küçük değer, Max: en büyük değer

Olguların kliniklere göre dağılımı Tablo'da verilmiştir. Kan kültürü üreme oranı en fazla olan klinik Yoğun Bakım (%99,1) olarak bulunmuştur (Tablo 5). Verilerin çoğunluğunu Dahili Klinikler'deki olgular oluşturmaktadır. Enfeksiyon Hastalıkları kliniğinden en sık örnek gönderilmesine rağmen bu örneklerdeki üreme oranı oldukça düşüktür (%8,2) (Tablo 5).

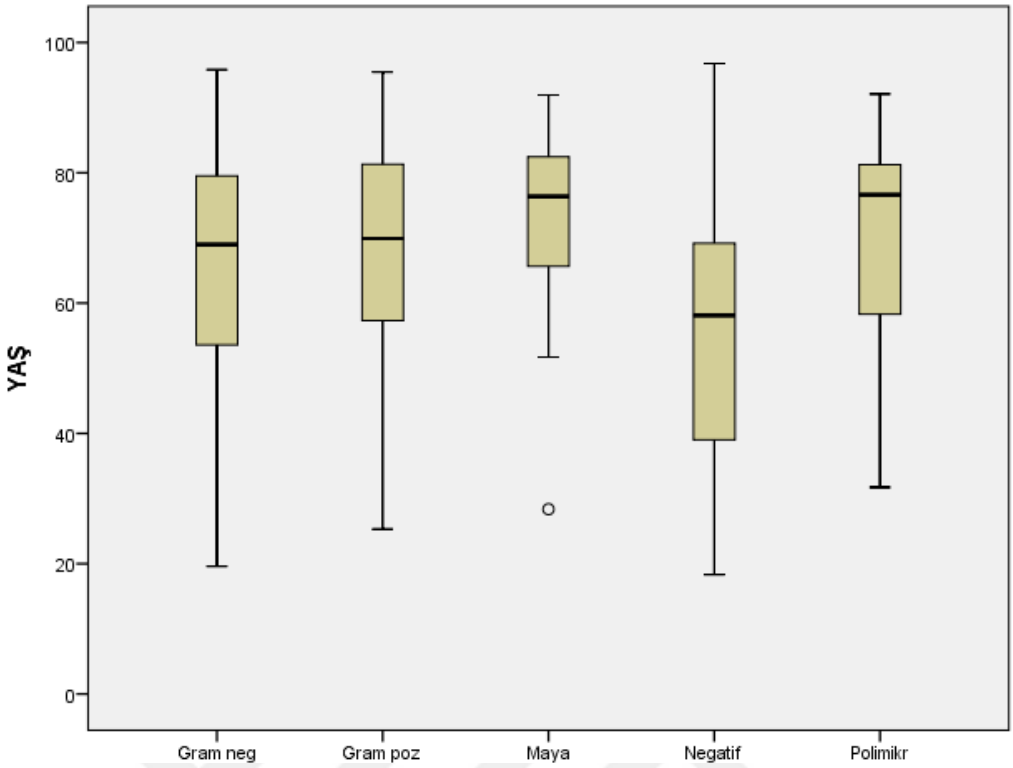
Tablo 5: Kan kültürlerinin kliniklere göre dağılımı

Klinik	Olgu sayısı (Yüzde)	Üreme Yüzdesi*
Cerrahi Klinikler	**41 (%7,2)**	**%75,6**
Yoğun Bakım	**114 (%20,1)**	**%99,1**
Dahili Klinikler	**143 (%25,3)**	**%68,5**
Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği	**268 (%47,3)**	**%8,2**
Toplam	**566 (%100)**	**%46,6**

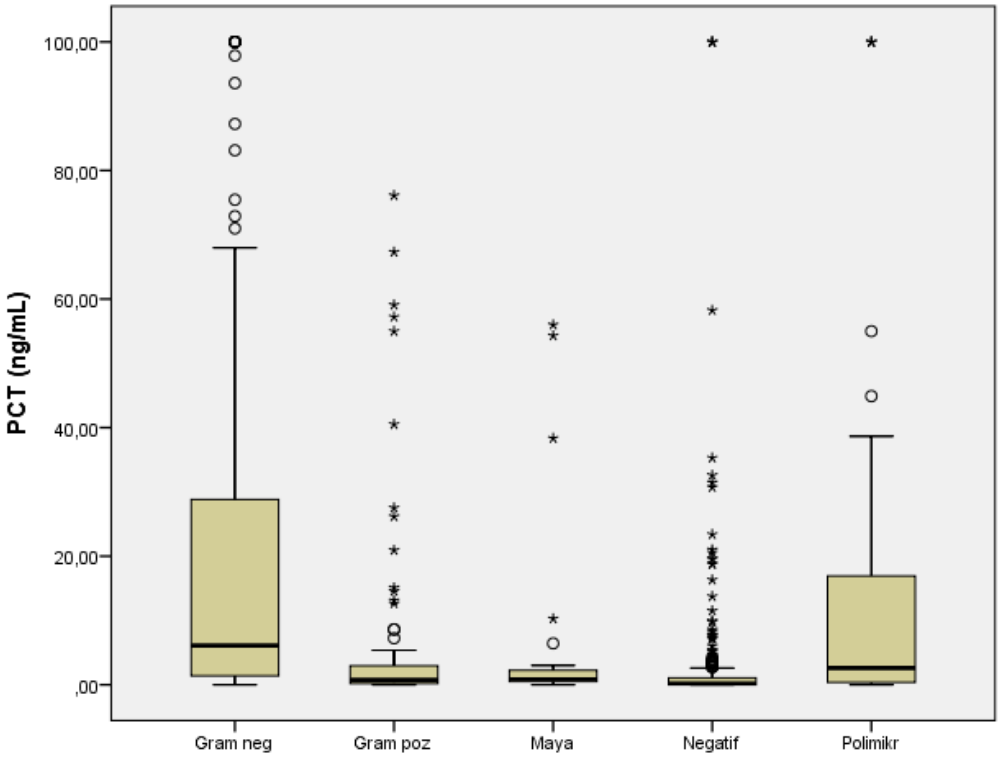
**: Kliniklerden gönderilen kan kültürlerinin üreme yüzdesi*

Kan Kültürü Gruplarının Değerlendirilmesi

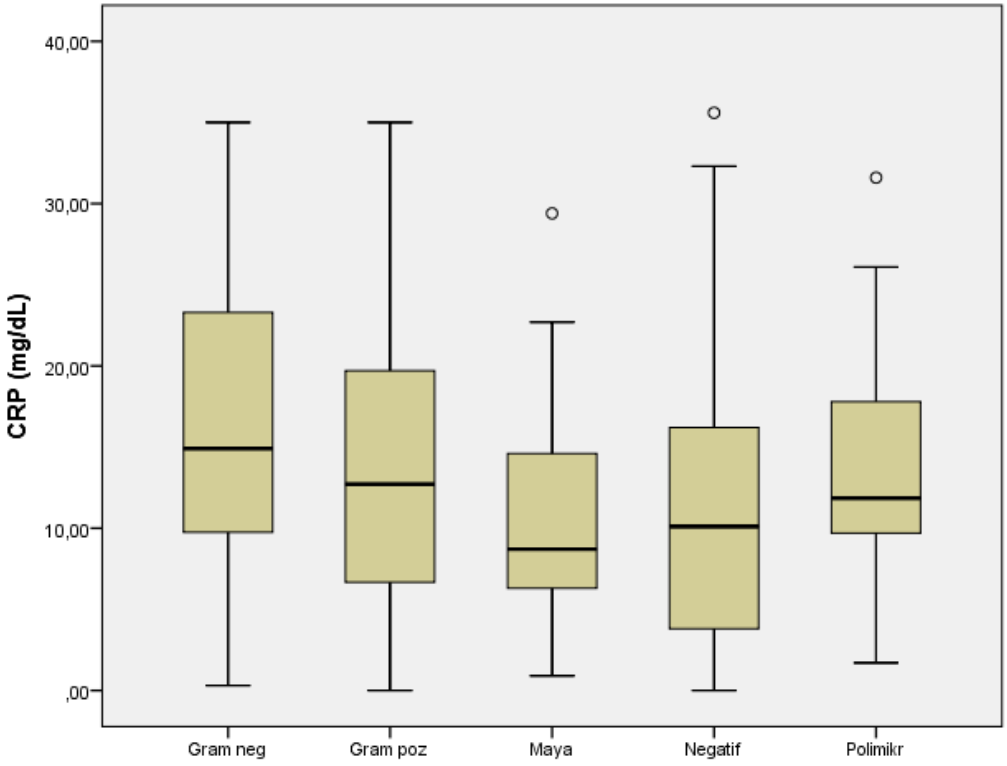
Olguların 264'ünde (%46,6) kan kültürü üremesi mevcut iken 302'sinde (%53,4) kan kültürü üremesi bulunmamaktadır (Tablo 7). Kan kültürü gruplarının yaş ve PCT, CRP ve WBC değerlerine göre dağılımı aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Bu dağılımlar normal dağılıma uymadığı için biyobelirteçlerin karşılaştırmalarında median ve IQR kullanılmıştır.



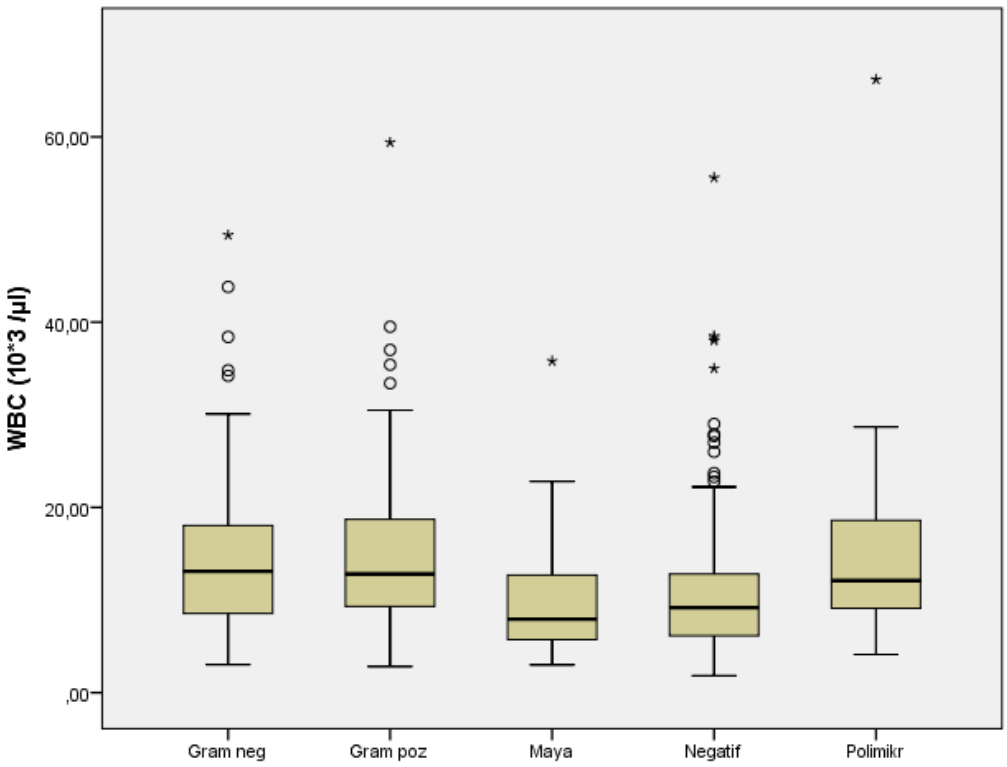
Şekil 5: Grupların yaş dağılımları



Şekil 6: PCT'nin gruplar arası dağılımı



Şekil 7: CRP'nin gruplar arası dağılımı



Şekil 8: WBC'nin gruplar arası dağılımı

Tablo 6: Kan kültürü gruplarının biyobelirteç düzeylerine göre karşılaştırılması

	Gram Negatif	Gram Pozitif	Maya	Polimikrobiyal	Negatif	Toplam	p
Olgu sayısı (n)	116	81	33	34	302	566	
Tüm olgular içinde yüzde	%20,5	%14,3	%5,8	%6	%53,4	%100	
Üreme olanlar içinde yüzde	%43,9	%30,7	%12,5	%12,9		%100	
Yaş median (Min-Max)	65,6 (19,6-95,8)	68,6 (25,3-95,5)	76,4 (28,4-92)	76,6 (31,7-92,1)	58,1 (18,3-96,8)	62,3 (18,3-96,8)	
PCT median (ng/ml) (IQR)	6,1 (1,4-30,4)	0,8 (0,2-3,3)	0,9 (0,5-2,3)	2,6 (0,4-17,3)	0,2 (0-1,1)	0,6 (0,1-3,8)	**0,001***
CRP median (mg/dl) (IQR)	14,9 (9,7-23,4)	12,7 6,5 (19,8)	8,7 (6,3-15)	11,9 (9,7-18)	10,1 (3,8-16,3)	11,8 (5,7-17,9)	**0,001***
WBC median (10^3/µl) (IQR)	13,1 (8,5-18,2)	12,8 (9,2-19)	7,9 (5,4-13)	12,1 (9,1-18,7)	9,2 (6,1-12,8)	10,6 (6,8-15,4)	**0,001***

*Kruskal Wallis Testi, *p<0,05 Min: en küçük değer Max: en büyük değer*

Prokalsitonin, CRP ve WBC değerleri açısından beş grup karşılaştırıldığında üç biyobelirteç için de anlamlı fark bulunmuştur (p=0,001) (Tablo 6).

Prokalsitonin açısından anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; Negatif grubun PCT düzeyi, diğer gruplardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,001). Gram negatif grubun PCT düzeyleri, Gram pozitif ve Maya gruplarından anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p_1=0,001; p_2:0,001). Diğer gruplar arasında PCT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

C-reaktif protein açısından anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; Negatif grubun CRP düzeyi, Gram negatif, Gram pozitif ve Polimikrobiyal gruplardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p_{1=}$0,001; p_2=0,001; p_3=0,03). Maya grubunun CRP düzeyi, Gram negatif, Gram pozitif ve Polimikrobiyal gruplardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p_1=0,001; p_2=0,048; p_3=0,048). Diğer gruplar arasında CRP düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

Lökosit sayısı açısından anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonrasında; Negatif grubun WBC düzeyi, Gram negatif, Gram pozitif ve Polimikrobiyal gruplardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p_1=0,001; p_2=0,001; p_3=0.001). Maya grubunun WBC düzeyi; Gram negatif, Gram pozitif ve Polimikrobiyal gruplardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p_1=0,002; p_2=0,001; p_3=0,008). Diğer gruplar arasında WBC düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

Kan kültüründe üreyen mikroorganizmalar, tür düzeyinde incelendiklerinde PCT medianı en yüksek olan mikroorganizma türü *Klebsiella sp.* (10 ng/ml, IQR 1,9-50,1), CRP medianı en yüksek olan mikroorganizma türü *Escherichia coli* (17,5 mg/dl, IQR 13-25,2), WBC medianı en yüksek olan mikroorganizma türü ise *Streptococcus sp.* (16,8 10^3/µl, 8,5-21,9) olmuştur (Tablo 7). Fermenter gram negatif bakterilerin PCT ve CRP düzeyi nonfermenter gram negatif bakterilere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p_1=0,016; p_2=0,001) (Tablo 7).

Tablo 7: Biyobelirteçlerin kan kültüründe üreyen etkene göre düzeyi

ÜREMELER	N	%	Pozitif KK içinde yüzde*	PCT(ng/ml)		CRP (mg/dl)		WBC (10^3/µl)	
				Median	IQR	Median	IQR	Median	IQR
Negatif kan kültürü	302	53,4		0,2	0-1,1	10,1	3,8-16,3	9,2	6,1-12,8
Pozitif kan kültürü	264	46,6		1,9	0,5-13,9	13	8,1-19,9	12,3	8,3-17,5
Escherichia coli	45	8	17	8,8	1,5-35,6	17,5	13-25,2	12,2	8,5-18,5
Klebsiella sp.	28	5	10,6	10	1,9-50,1	17	8,4-26,5	13	7,1-16,4
Pseudomonas sp.	12	2,1	4,5	5,3	1,2-28,6	11,9	7,6-21,3	12,3	7-22,2
Acinetobacter sp.	19	3,4	7,2	1,8	0,1-7,1	10,2	6,4-15,1	15,9	10,2-23,4
Enterococcus sp.	34	6	12,9	0,6	0,2-1,6	12,3	5,6-17,1	12,7	9,1-19,6
Streptococcus sp.	7	1,2	2,7	0,7	0,2-8,6	6,8	1,6-29,5	16,8	8,5-21,9
Staphylococcus aureus	40	7	15,2	1	0,3-5,3	16,5	8,7-23,4	13	9,2-17,1
Candida albicans	12	2,1	4,5	0,9	0,2-2,1	12,1	8,1-17,2	10,2	7,7-15,9
Non-albicans *Candida sp.*	21	3,9	8	1	0,6-2,6	8,6	5,7-14,3	6,5	4,5-12,3

**: Mikroorganizmaların pozitif kan kültürü sonuçları içindeki yüzdesi KK: Kan kültürü*

Kan Kültürü Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Kan kültüründeki üreme varlığı biyobelirteç pozitifliğine göre değerlendirilmiştir. Kan kültürü üremesi olan hastaları yakalamada en başarılı test %99,2 duyarlılığı ile CRP testi bulunmuştur, bu testi %76,5 ile PCT testi takip etmiştir. Kan kültürü üremesi olmayan hastaları ayırmada en başarılı test %63,2 özgüllüğü ile PCT testi, en başarısız test ise %4,6 ile CRP testi olmuştur (Tablo 8).

Tablo 8: Kan kültürü üremesi varlığının biyobelirteç pozitifliğine göre değerlendirilmesi

		Üreme			
		Var	**Yok**	***Total***	
		n (%[a])	**n (%[b])**	***n (%)***	**P**
PCT	**Pozitif**	202 (%76,5)	111 (%36,8)	*313 (%55,3)*	**[1]0,001***
	Negatif	62 (%23,5)	191 (%63,2)	*253 (%44,7)*	
CRP	**Pozitif**	262 (%99,2)	288 (%95,4)	*550 (%97,2)*	**[2]0,012***
	Negatif	2 (%0,8)	14 (%4,6)	*16 (%2,8)*	
WBC	**Lökositoz**	161 (%61)	128 (%42,4)	*289 (%51,1)*	**[1]0,001***
	Normal	92 (%34,8)	147 (%48,7)	*239 (%42,2)*	
	Lökopeni	11 (%4,2)	27 (%8,9)	*38 (%6,7)*	

[1]Ki-Kare Test *[2]Continuity (Yates) Düzeltmesi* **p<0.05*

a: Üreme olanlar içinde yüzdesi *b: Üreme olmayanlar içinde yüzdesi*

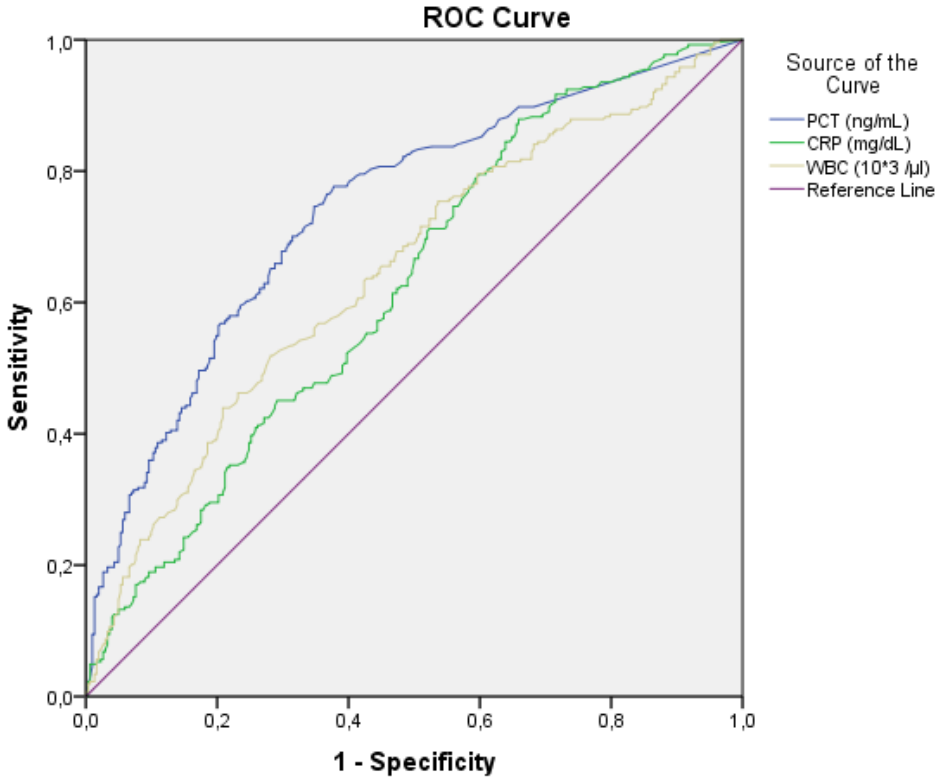
Kan kültürü üremesi olanlarda PCT pozitif olma oranı (%76,5), üremesi olmayanlardan (%36,8) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,001) (Tablo 8).

Kan kültürü üremesi olanlarda CRP pozitif olma oranı (%99,2), üremesi olmayanlardan (%95,4) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,012) (Tablo 8).

Kan kültürü üremesi olanlarda lökositoz görülme oranı (%61), üremesi olmayanlardan (%42,4) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,001) (Tablo 8).

Kan Kültüründe Üreme Varlığının Tahmini

Öncelikle biyobelirteçlerin kan kültürü üremesini tahminindeki performansı değerlendirilmiştir. Kan kültürü üremesinin tespitinde testlerin pozitiflik sınır değerlerinden farklı olarak kan kültürü üremesini daha iyi şekilde tespit edecek cut-off noktaları belirlenmeye çalışılmıştır. Bu yeni cut-off'ların ve pozitiflik sınır değerlerinin kan kültürü üreme varlığını tahmin etmedeki tanısal performansı değerlendirilmiştir (Tablo 10).



Şekil 9: Kan kültürü pozitifliğinin belirlenmesinde PCT, CRP ve WBC'nin ROC eğrisi ile karşılaştırılması

Tablo 9: Kan kültürü pozitifliğinin belirlenmesinde biyobelirteçler için ROC eğrisi parametrelerinin karşılaştırılması

Test	AUC	%95 CI	SE	P
PCT (ng/mL)	0,74	0,70-0,78	0,021	0,001
CRP (mg/dL)	0,62	0,58-0,67	0,023	0,001
WBC (10*3/µl)	0,65	0,60-0,69	0,023	0,001

Tablo 10: Kan kültürü üremesinin tahmininde biyobelirteçlerin tanısal performans değerleri

TEST	Duyarlılık (%95 CI)	Özgüllük (%95 CI)	PPD (%95 CI)	NPD (%95 CI)	Doğruluk (%95 CI)	DOR (%95 CI)	J
PCT pozitifliği ≥0,5 ng/ml	%76,5 (70,9-81,5)	%63,2 (57,5-68,7)	%64,5 (60,7-68,2)	%75,5 (70,9-79,6)	%69,4 (65,5-73,2)	5,6 (3,9-8,1)	0,39
CRP pozitifliği ≥0,5 mg/dl	%99,2 (97,3-99,9)	%4,6 (2,6-7,7)	%47,6 (47,0-48,3)	%87,5 (61,6-96,8)	%48,8 (44,6-53,0)	6,4 (1,4-28,3)	0,03
Lökositoz ve lökopeni >10,2 ve <4,0 10^3/µl	%65,2 (59,1-70,9)	%48,7 (42,9-54,5)	%52,6 (49,1-56,1)	%61,5 (56,6-66,2)	%56,4 (52,2-60,5)	1,8 (1,3-2,5)	0,15
PCT cut-off ≥0,47 ng/ml	%76,9 (71,3-81,8)	%62,6 (56,9-68,1)	%62,2 (60,5-67,8)	%75,6 (71,0-79,7)	%69,3 (65,3-73,0)	5,6 (3,8-8,1)	0,40
CRP cut-off ≥5,23 mg/dl	%87,9 (83,3-91,6)	%34,1 (28,8-39,8)	%58,8 (51,5-56,1)	%76,3 (69,2-82,2)	%59,2 (55,0-63,3)	3,8 (2,4-5,8)	0,22
WBC cut-off ≥12,15 10^3/µl	%51,9 (45,7-58,1)	%71,9 (66,4-76,9)	%61,7 (56,5-66,6)	%63,1 (59,7-66,4)	%62,5 (58,4-66,6)	2,8 (1,9-3,9)	0,24
PCT pozitifliği CRP pozitifliği Lökositoz ve lökopeni	%99,3 (96,1-100,0)	%16,0 (8,6-26,3)	%68,7 (66,5-70,8)	%92,3 (61,4-98,9)	%70,1 (63,5-76,1)	26,3 (3,3-206,6)	0,15
PCT ≥0,47 ng/ml CRP ≥5,23 mg/dl WBC ≥12,15 10^3/µl	%87,6 (80,4-92,9)	%65,0 (55,6-73,6)	%72,1 (66,7-77,0)	%83,5 (75,6-89,2)	%76,5 (70,6-81,7)	13,1 (6,8-25,4)	0,53

Gram Negatif Bakteri Bulunan Üremelerin Diğer Olgularla Karşılaştırılması

Gram negatif bakteri bulunan kan kültürü üremelerinde polimikrobiyal olsa bile diğer olgulardan daha yüksek PCT ve CRP düzeyi izlenmiştir (Tablo 11).

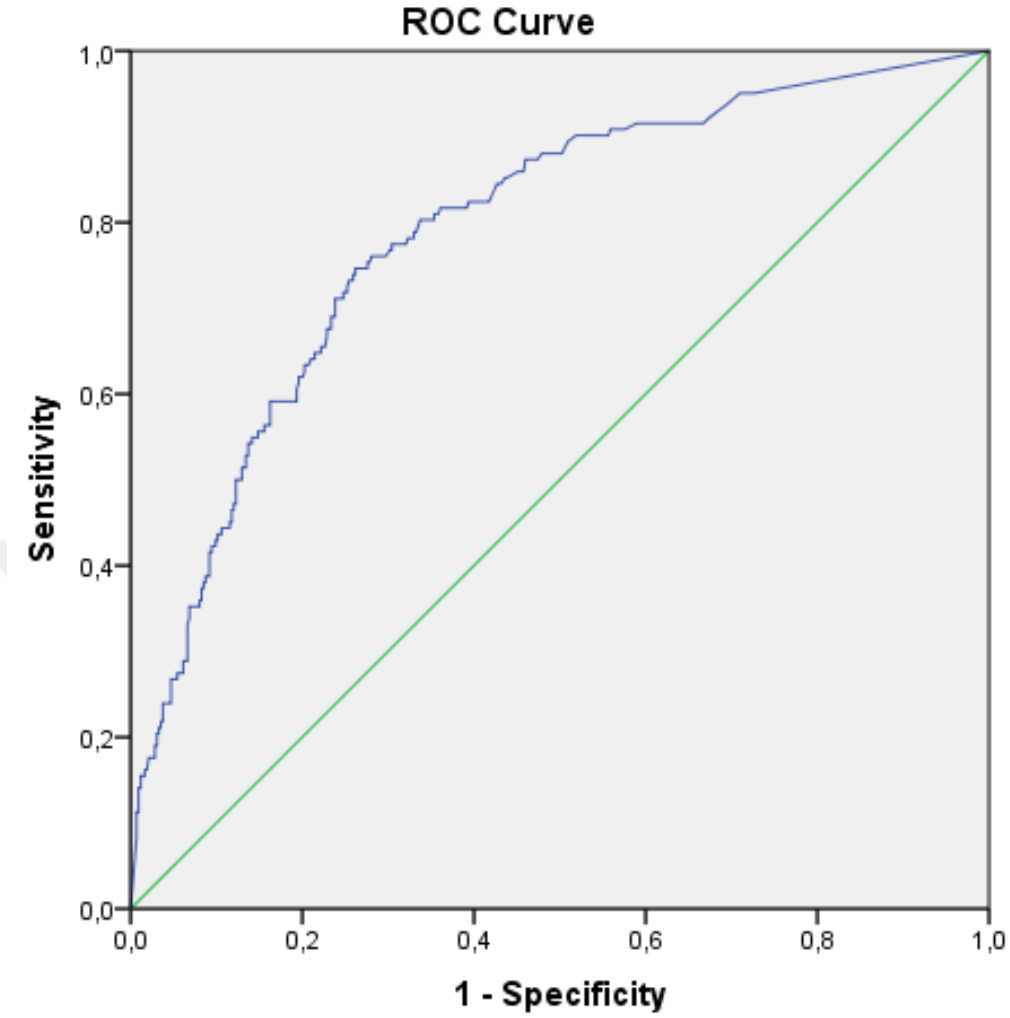
Tablo 11: Polimikrobiyal alt gruplarının biyobelirteç düzeyi açısından Gram negatif grup ile karşılaştırılması

	Gram Negatif	**Polimikrobiyal-1**	**Polimikrobiyal-2**
Olgu sayısı (n)	116	26	8
PCT Median (ng/mL) (IQR)	6,1 (1,4-30,4)	2,7 (0,6-19,0)	0,3 (0,0-11,3)
CRP Median (mg/dL) (IQR)	14,9 (9,7-23,4)	11,9 (10,1-18,0)	10,4 (6,0-20,2)
WBC Median (10^3/µl) (IQR)	13,1 (8,5-18,2)	12,2 (8,6-18,7)	12,1 (9,6-19,8)

Polimikrobiyal-1: Gram negatif bakteri bulunan Polimikrobiyal alt grubu
Polimikrobiyal-2: Gram negatif bakteri bulunmayan Polimikrobiyal alt grubu

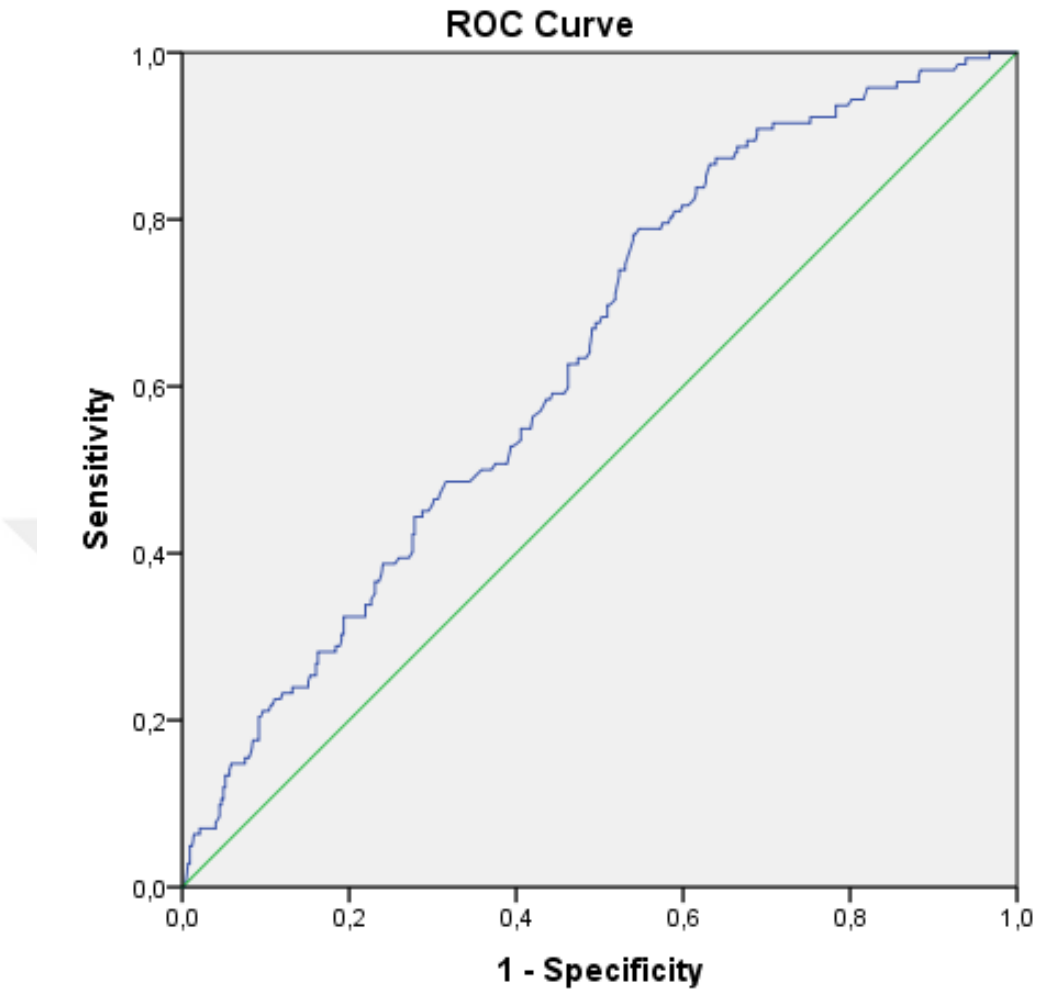
Gram negatif ve Polimikrobiyal-1 grupları gram negatif bakteri üremesi olarak kabul edilmiştir.

Gram negatif bakteri bulunan üremeleri, diğer olgulardan ayırt edebilmek için gram negatif bakteri üremesi yüksek risk, diğer olgular düşük risk kabul edilerek PCT ve CRP için ROC analizi uygulanmıştır (Şekil 10-11).



Şekil 10: Gram negatif bakteri bulunan üremeleri diğer olgulardan ayırmada PCT için ROC eğrisi

Eğri altında kalan alan 0,791 (%95 CI, 0,748-0,834), standart hatası 0,022'dir. AUC 0,7-0,8 arasında ve 'iyi' olarak bulunmuştur. AUC, 0,5'ten anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (p=0,001). Yüksek risk tanısında PCT için iki cut-off noktası belirlenmiştir.



Şekil 11: Gram negatif bakteri bulunan üremeleri diğer olgulardan ayırmada CRP için ROC eğrisi

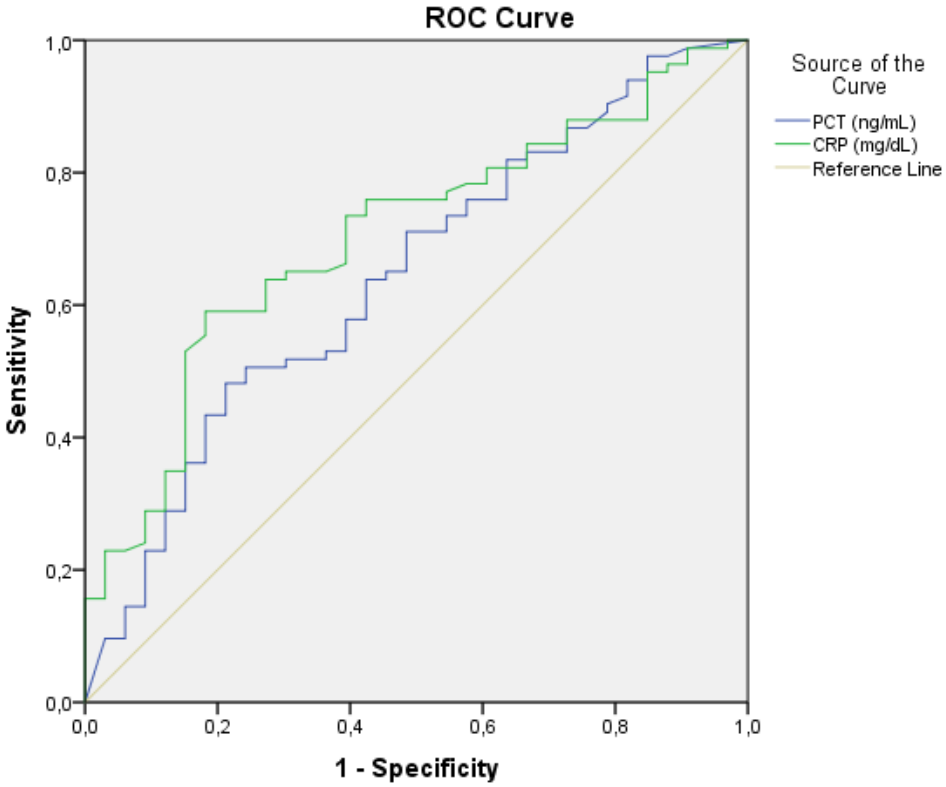
Eğri altında kalan alan 0,635 (%95 CI, 0,585-0,685), standart hatası 0,025'tir. AUC 0,6-0,7 arasında ve 'orta' olarak bulunmuştur. AUC, 0,5'ten anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (p=0,001). Yüksek risk tanısında CRP için bir cut-off noktası belirlenmiştir.

Tablo 12: PCT ve CRP testinin gram negatif bakteri bulunan üremeleri diğer olgulardan ayırmada farklı cut-off'lardaki tanısal performans değerleri

TEST	Duyarlılık (%95 CI)	Özgüllük (%95 CI)	PPD (%95 CI)	NPD (%95 CI)	Doğruluk (%95 CI)	DOR (%95 CI)	J
PCT cut-off ≥1,34 ng/ml	%74,7 (66,7-81,6)	%73,8 (69,4-77,9)	%48,9 (44,2-53,5)	%89,7 (86,7-92,1)	%74,0 (70,2-77,6)	8,3 (5,4-12,8)	0,49
PCT cut-off ≥1,15 ng/ml	%76,1 (68,2-82,8)	%71,9 (67,4-76,9)	%47,6 (43,2-52,0)	%90,0 (87,0-92,4)	%73,0 (69,1-76,6)	8,1 (5,2-12,6)	0,49
CRP cut-off ≥9,62 mg/dl	%78,2 (70,5-84,7)	%46,0 (41,2-50,9)	%32,7 (30,0-35,4)	%86,3 (81,9-89,7)	%54,1 (49,9-58,2)	3,0 (2,0-4,7)	0,24
PCT ≥1,34 ng/ml CRP ≥9,62 mg/dl	%88,7 (80,6-94,2)	%66,2 (60,1-71,9)	%49,4 (44,8-54,0)	%94,0 (89,9-96,5)	%72,5 (67,3-76,9)	15,3 (7,8-30,1)	0,55

Fermenter Gram Negatif Grubun Nonfermenter Gram Negatif Grupla Karşılaştırılması

Fermenter gram negatif grubun PCT (8,8 ng/ml, IQR [1,7-36,8]) ve CRP (17 mg/dl, IQR [11,2-24]) düzeyi; nonfermenter gram negatif grubun PCT (2,1 ng/ml, IQR [0,7-9,1]) ve CRP (10,9 mg/dl, IQR [6,8-15,2]) düzeyine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p_1=0,016; p_2=0,001). Bu grupları ayırt etmek amacıyla PCT ve CRP için ROC analizi gerçekleştirilmiştir (Şekil 12).



Şekil 12: Fermenter gram negatif grubu, nonfermenter gram negatif gruptan ayırmada PCT ve CRP'nin ROC analizi ile karşılaştırılması

Tablo 13: Fermenter gram negatif grubu, nonfermenter gram negatif gruptan ayırmada PCT ve CRP için ROC eğrisi parametrelerinin karşılaştırılması

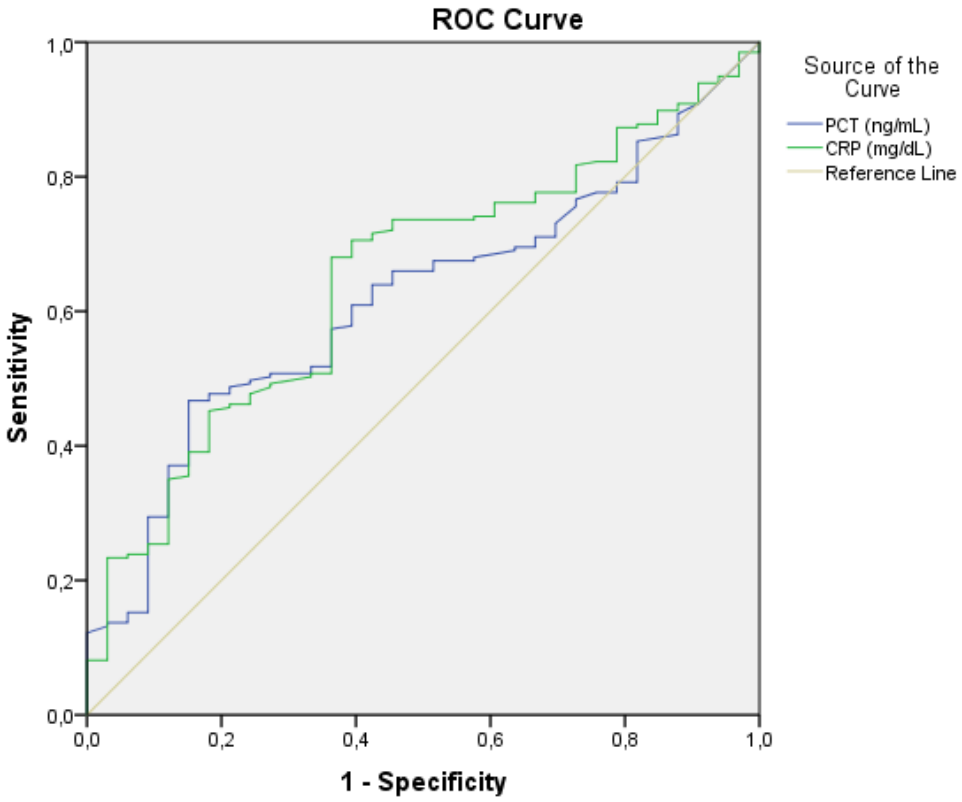
Test	AUC	%95 CI	SE	P
PCT (ng/mL)	0,643	0,532-0,754	0,056	0,016
CRP (mg/dL)	0,703	0,603-0,804	0,051	0,001

Tablo 14: PCT ve CRP testlerinin fermenter gram negatif bakterileri, nonfermenter gram negatif bakterilerden ayırmada farklı cut-off'lardaki tanısal performans değerleri

TEST	Duyarlılık (%95 CI)	Özgüllük (%95 CI)	PPD (%95 CI)	NPD (%95 CI)	Doğruluk (%95 CI)	DOR (%95 CI)	J
PCT cut-off ≥9,68ng/ml	%48,2 (37,1-59,4)	%78,8 (61,1-91,0)	%85,1 (74,1-92,0)	%37,7 (31,5-34,1)	%56,9 (47,4-66,1)	3,5 (1,4-8,8)	0,27
CRP cut-off ≥15,8 mg/dl	%59,0 (47,7-69,7)	%81,8 (64,6-93,0)	%89,1 (79,5-94,5)	%44,3 (36,9-51,8)	%65,5 (56,1-74,1)	6,5 (2,4-17,4)	0,41
PCT ≥9,68ng/ml CRP ≥15,8mg/dl	%55,8 (41,3-69,5)	%91,7 (73,0-99,0)	%93,6 (79,0-98,2)	%48,9 (40,8-57,1)	%67,1 (55,4-77,5)	13,9 (3,0-65,2)	0,48

Bakteri Üremesinin Maya Üremesi ile Karşılaştırılması

Septisemik hastalarda ampirik tedaviye antifungal ajan eklenmesi kararına yardımcı olmak üzere bakteri üremesini, maya üremesinden ayırmak amacıyla PCT ve CRP birbirleriyle karşılaştırılmıştır (Şekil 13). Polimikrobiyal grup hem maya hem bakteri içermesi nedeniyle değerlendirmeye alınmamıştır.



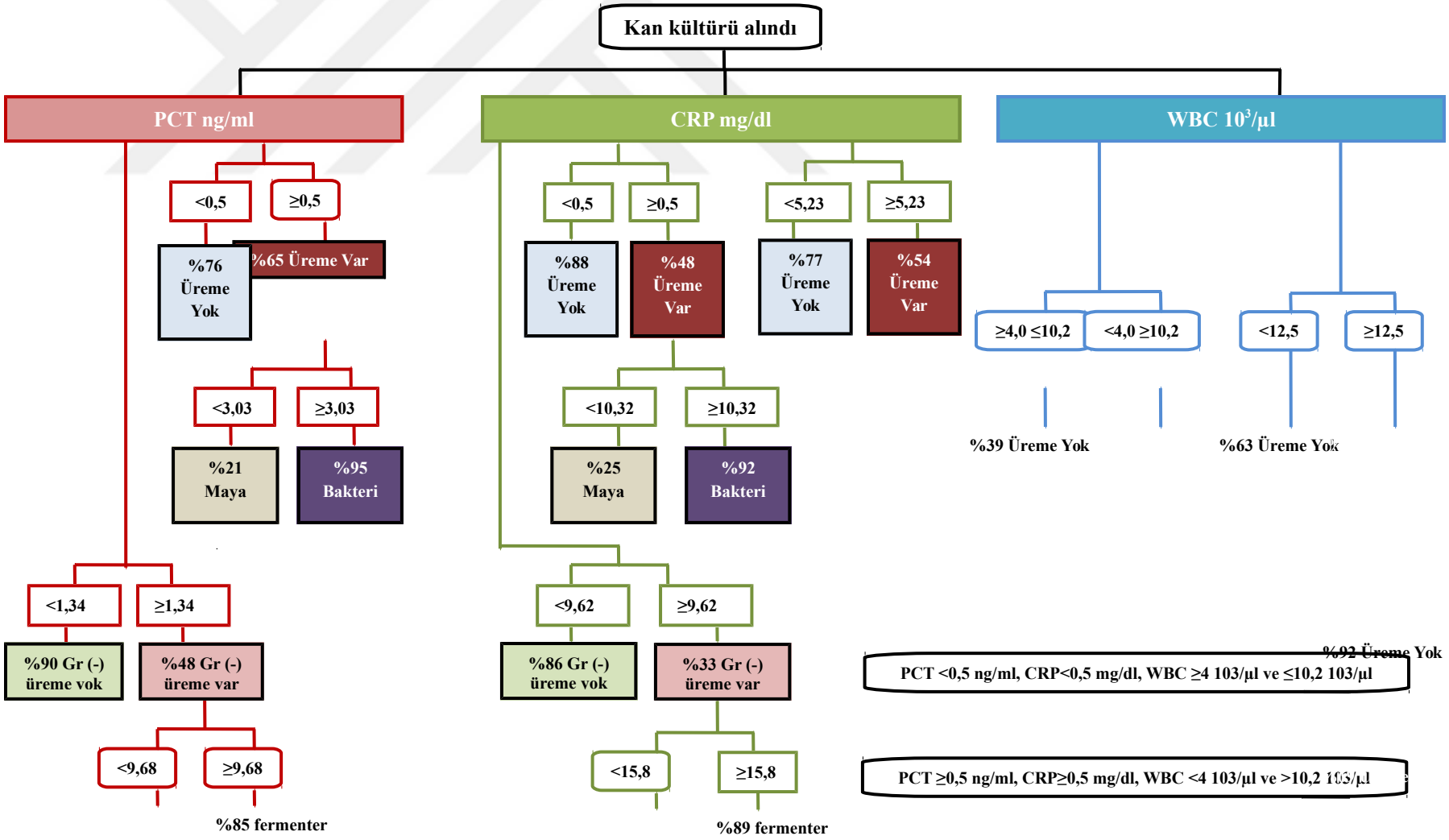
Şekil 13: Bakteri üremesini, maya üremesinden ayırmada PCT ve CRP'nin ROC analizi ile karşılaştırılması

Tablo 15: Bakteri üremesini, maya üremesinden ayırmada biyobelirteçler için ROC eğrisi parametrelerinin karşılaştırılması

Test	AUC	%95 CI	SE	P
PCT (ng/mL)	0,618	0,528-0,707	0,046	0,03
CRP (mg/dL)	0,648	0,557-0,740	0,047	0,006

Tablo 16: CRP ve PCT testlerinin bakteri üremesini, maya üremesinden ayırmada farklı cut-off'lardaki tanısal performans değerleri

TEST	Duyarlılık (%95 CI)	Özgüllük (%95 CI)	PPD (%95 CI)	NPD (%95 CI)	Doğruluk (%95 CI)	DOR (%95 CI)	J
CRP cut-off ≥10,32mg/dl	%68,0 (61,0-74,5)	%63,6 (45,1-79,6)	%91,8 (87,6-94,7)	%25 (19,4-31,7)	%67,4 (60,9-73,4)	3,7 (1,7-8,0)	0,32
PCTcut-off ≥3,03ng/ml	%46,7 (39,6-53,9)	%84,9 (68,1-94,9)	%94,9 (89,0-97,7)	%21,1 (18,0-24,5)	%52,2 (45,5-58,8)	4,9 (1,8-13,2)	0,32
CRP ≥10,32mg/dl PCT ≥3,03ng/ml	%63,6 (53,7-72,6)	%86,4 (65,1-97,1)	%95,8 (88,7-98,5)	%32,8 (26,5-39,7)	%67,4 (58,6-75,4)	11,0 (3,1-39,7)	0,50



Şekil 14: Kan kültürü sonucunu tahmin etmede biyobelirteçlerin kullanımının akış şeması

6. TARTIŞMA

Çalışmamızda kan kültüründe üreyen mikroorganizmayı tahmin etmede üç biyobelirteçin kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Gram negatif üremelerde üç belirteç de diğer gruplardan yüksek düzeyde bulunmuş; ama anlamlı fark sadece PCT ve CRP için tespit edilmiştir. Gram negatif bakteriyemilerde yüksek bulunan PCT ve CRP, önceki yayınlarla uyumludur. Gram negatif bakteriyemiyi tahmin etmede PCT daha başarılı bulunmuştur. Genel olarak PCT cut-off'larının tanısal performansı daha iyi olmakla birlikte CRP ile birlikte kullanımı bu performansı arttırmış ve kritik hastalarda ampirik antimikrobiyal tedavide yol gösterici olabileceği düşüncesi oluşmuştur.

İn vitro çalışmalarda gram negatif, gram pozitif ve fungal ajanların inflamatuvar basamakları başlatmadaki farklılıkları gösterilmiştir. Gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritleri Toll-like receptor (TLR)-4'ü uyararak nötrofilleri aktive ederken, gram pozitif bakterilerin lipoteikoik asitleri TLR-2'yi aktive etmektedir (4). TLR aktivasyonu, proinflamatuvar sitokin ve akut faz proteinlerinin sentezine yol açan inflamatuvar basamakları tetiklemektedir (4). Gram negatif enfeksiyonlar büyük ihtimalle gram pozitif enfeksiyonlardan daha fazla miktarda TNF-α salınmına yol açmakta ve IL-1, IL-6, IL-10 ve IL-8'in plazma düzeyinde farklılıklar bulunmaktadır (4). Gram negatif bakteriyemilerde meydana gelen daha yüksek inflamatuvar cevap, bu bakteriyemilerdeki yüksek PCT düzeylerini açıklayabilmektedir (4).

Wang ve ark (19) tarafından 2013 yılında yayınlanan çalışmada PCT, CRP, WBC ve nötrofil oranının kan dolaşımı enfeksiyonunu dışlamadaki tanısal performansı değerlendirilmiştir. Beş yüz seksen altı hastada yapılan çalışmada kan kültürü pozitif hastaların PCT düzeyi, kan kültürü negatif hastaların PCT düzeyinden anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0,000). Kan kültürü üremesini en iyi tespit eden PCT cut-off'u 0,8 ng/ml olarak belirlenmiş, bu nokta yüksek NPD'si (%94) ile kan dolaşımı enfeksiyonunu dışlamada başarılı bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise üç biyobelirteç karşılaştırıldığında kan dolaşımı enfeksiyonunu dışlamada %88

NPD'si ile CRP, tespit etmede ise %65 PPD'si ile PCT en başarılı bulunmuştur. Bu çalışmada ayrıca 57 hastanın KNS'lerle gerçekleşen kan kültürü üremeleri kontaminasyon ve etken olarak ikiye ayrılmış ve bu ayrımı yapmak için bir cut-off noktası (0,58 ng/ml) belirlenmiştir. Bu cut-off noktası yüksek NPD'si (%96) ile KNS üremelerinde kontaminasyonu dışlamada başarılı bulunmuştur. Bizim çalışmamıza KNS'ler ve kontaminasyon kan kültürleri dahil edilmediği için biyobelirteçlerin etken/kontaminasyon ayrımındaki tanısal performansı değerlendirilememiştir.

Guo ve ark. (4) tarafından Aralık 2012-Aralık 2013 tarihleri arasında Çin'de 202 sepsisli hastada yapılan çalışmada gram negatif bakteriyemilerde PCT'in bir belirteç olarak kullanımı CRP, WBC ve trombosit sayısı ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Gram negatif bakteriyemilerdeki PCT düzeyi çalışmamıza benzer şekilde gram pozitif bakteriyemi ve fungemiden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aynı şekilde en yüksek PCT düzeyleri gram negatif ve polimikrobiyal gruplarında izlenmiştir. Belirlenen 3,39 ng/ml cut-off değeri yüksek NPD'si (%91) ile bizim çalışmamızda belirlenen 1,34 ng/ml cut-off değeri gibi (NPD'si %89,7) gram negatif bakteriyemiyi dışlamada başarılı bulunmuştur.

Bilgili ve ark. (20) tarafından 2017 yılında yayınlanan çalışmada 124 sepsis tanılı bakteriyemili hasta, gram negatif ve gram pozitif olmak üzere iki gruba ayrılarak PCT, CRP ve WBC değerleri açısından incelenmiştir. Gram negatif grubun PCT ve CRP düzeyi, gram pozitif grubun PCT ve CRP düzeyinden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p_1<0,001, p_2=0,03). İki grup, lökosit sayıları açısından karşılaştırıldığında çalışmamızla uyumlu şekilde anlamlı bir fark bulunamamıştır. PCT için belirledikleri 1,3 ng/ml cut-off noktasının duyarlılığı, bizim çalışmamızda belirlenen 1,34 ng/ml cut-off değerine göre düşük; özgüllüğü ise daha yüksek bulunmuştur.

Kim ve ark. (21) tarafından Eylül 2008 - Şubat 2009 ayları arasında yapılan çalışmaya toplam 82 sağlıklı ve hasta kişi dahil edilerek PCT ve CRP düzeyleri açısından incelenmiştir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde gram negatif bakteriyemideki PCT düzeyi, gram pozitif bakteriyemideki PCT düzeyinden anlamlı derecede yüksek bulunmuş; fakat farklı olarak CRP düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Oussalah ve ark. (22) tarafından 2015 yılında yayınlanmış ve %87,7'si negatif kan kültürü sonucuna sahip 35.543 hastada yapılan çalışmada PCT'nin kan kültürü sonuçlarını tahmin etmedeki başarısı değerlendirilmiştir. En yüksek PCT düzeyi gram negatif bakteriyemide, en düşük düzey ise negatif kan kültürlerinde gözlenmiştir. Gram negatif bakteriyemili hastalar arasında en yüksek PCT düzeyi anaerop bakterilerde ve çalışmamıza benzer şekilde *Enterobacteriaceae'*de bulunmuştur. Anaerop bakteriler, kan kültüründe tespit oranımızın düşüklüğü nedeniyle çalışmamıza dahil edilememiş, bu nedenle değerlendirilememiştir. Aynı çalışmada ROC analizinde cut-off belirlemek yerine belli aralıklar seçilerek, bu aralıkların tanısal performansları değerlendirilmiştir. 0,4-0,75 ng/ml aralığındaki PCT değerleri tüm patojenleri dışlamada yüksek tanısal doğruluğa sahip bulunmuştur. Bu aralık NPD açısından incelendiğinde gram negatif bakteriler için %98,9, gram pozitif bakteriler için %94,8, mayalar için %99,6 bulunmuştur. Bizim çalışmamızda PCT'nin 0,5 ng/ml değeri tüm patojenleri dışlamada en iyi cut-off noktası olarak tespit edilmiş; ancak bu noktanın NPD'si (%76) bu çalışmaya oranla daha düşüktür, bu sonuç negatif kan kültürü yüzdemizin bu çalışmaya göre daha düşük olmasıyla açıklanabilir. Çalışmamızda kan dolaşımı enfeksiyonunu dışlamada CRP, %88'lik NPD'si ile PCT'den daha başarılı; tespit etmede ise PCT %65'lik PPD'si ile CRP'den daha başarılı bulunmuştur. Ayrıca WBC için kan kültürü üremesini tespit etmede belirlediğimiz yeni cut-off olan 12,5 10^3/µl değeri, %62'lik PPD'si ile kan kültüründe üremeyi tespit etmede PCT'e yakın bir performanstadır.

Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların tespitinde bizim kullandığımız belirteçler dışındakileri de değerlendiren çalışmalar bulunmaktadır. Qu ve ark. (23) tarafından 2012 yılında 38°C'nin üzerinde ateş ile Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği'ne başvuran 326 yetişkin hastada yapılan çalışmada PCT, CRP, IL-6 ve serum amiloid A (SAA) düzeylerinin bakteriyel enfeksiyonun tahmininde kullanılabilmesi değerlendirilmiştir. Gram negatif bakteriyemisi olan hastalarda gram pozitif bakteriyemilere göre PCT düzeyi ve CRP yüksek bulunurken, IL-6 ve SAA düşük bulunmuştur. Çalışmada gram pozitif bakteriyemilerde tespit edilen IL-6 ve SAA yüksekliğinin nedenine dair bir yorumlama yapılmamıştır. SAA'nın ateşli hastalarda bakteriyel enfeksiyonu tespit etmede iyi bir biyobelirteç olmadığı sonucuna varılmıştır. Febril nötropenili hastalarda IL-6'nın CRP'den daha iyi bir biyobelirteç

olduğunu gösteren daha önceki bir çalışmayla aynı sonucu bulamamışlardır. Bu durumun testlerin istenme zamanındaki uyumsuzluktan kaynaklanabileceğini düşünmüşlerdir. Bir uyarandan sonra biyobelirteçlerin farklı yarı ömürleri ve farklı tepe noktasına ulaşma zamanları bulunmaktadır. IL-6 endotoksin uygulandıktan sonra 2 saat içinde yükselmekte, sonrasında yavaş yavaş düşmektedir. PCT, uyarandan 6 saat sonra yükselmekte 12. ve 48. saatler arasında plato çizmekte ve uyaran kesildiğinde azalmaktadır. CRP, PCT'den 4 saat sonra yükselmeye başlamaktadır. Genel olarak biyobelirteç düzeyi ölçümlerinin bazı dezavantajları bulunmaktadır. Ölçülen biyobelirteç düzeyinin salınım eğrisinde hangi döneme denk geldiğinin bilinmemesi bizim çalışmamızın da kısıtlılıklardan biridir. Biyobelirteçlerin birlikte değerlendirilmesinin bakteriyel enfeksiyonların tahmininde daha yüksek duyarlılık ve özgüllük sağlayacağı belirtilmiştir. Bizim çalışmamamızda da PCT ve CRP'nin birlikte kullanımı tanısal performansı arttırmıştır.

Fu ve ark. (24) tarafından yoğun bakımda yatan 85 hastada yapılan ve 2012 yılında yayınlanan çalışmada hastalar kan kültürü sonuçları açısından gram pozitif bakteriyemi, gram negatif bakteriyemi, kandidemi ve üreme olmayan olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Bu gruplar bir önceki çalışmaya benzer şekilde PCT, CRP, SAA ve IL-6 düzeyleri bakımından incelenmiştir. PCT median düzeyleri incelendiğinde diğer çalışmalardan farklı olarak gram pozitif bakteriyemilerde de yüksek PCT düzeyi gözlenmiştir. Kandidemiyi gram pozitif veya gram negatif bakteriyemiden ayırmada biyobelirteçlerin tanısal performansı değerlendirildiğinde PCT, CRP'den daha başarılı bulunmuştur. PCT'nin kandidemiyi gram pozitif bakteriyemiden ayıran 2,12 ng/ml cut-off değerinin duyarlılığı %84, özgüllüğü %75; kandidemiyi gram negatif bakteriyemiden ayıran 8,06 ng/ml cut-off değerinin duyarlılığı %87, özgüllüğü %85 bulunmuştur. Kandidemiye bağlı sepsisin tanısında PCT, CRP ve IL-6 birlikte kullanıldığında yüksek duyarlılık ve özgüllük elde edilmiştir. Kritik septik hastalarda düşük PCT değerlerinin bakteriyemiden ziyade kandidemi ile ilişkili olabileceği düşünülmüş ve biyobelirteçlerin birlikte kullanımının kandidemiyi bakteriyel sepsisten ayırmada faydalı olacağı önerilmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde düşük biyobelirteç düzeylerinin kandidemiyi akla getirmesi önerilmektedir. Kan kültürü üremelerinde bakterilerin her zaman

mayalardan daha sık etken olması ve bu nedenle çalışmamıza dahil edilen maya sayısının bakteri sayısından az olması nedeniyle belirlediğimiz cut-off'lar mayaları tespit etmekten çok dışlamada başarılı bulunmuştur. PCT ve CRP bu açıdan karşılaştırıldığında; PCT maya enfeksiyonu dışlamada, CRP ise tespit etmede daha başarılı bulunmuştur. Bu belirteçler dışında mayaları tespit etmek için farklı metodlar da araştırılmaktadır. Hemogram cihazlarının mayaları yanlışlıkla çekirdekli eritrosit olarak tanımlayabilmesi sebebiyle bu durumun kandidemi tespitinde kullanılabilirliliğini araştıran ilgi çekici çalışmalar da bulunmaktadır (25).

Yan ve ark. (26) tarafından 2016 yılında yayınlanan, 414 kan kültürü enfeksiyonu olan hastada yapılan çalışmada farklı bakteri türlerinde ve enfeksiyon kaynaklarında ölçülen PCT düzeyleri araştırılmıştır. Gram negatif ve gram pozitif bakteriyemileri ayırmada bir PCT cut-off noktası (0,495 ng/ml) belirlenmiş, belirlenen bu noktanın tanısal performansı bizim belirlediğimiz cut-off noktasından (1,34 ng/ml) düşük bulunmuştur. Kan dolaşımı enfeksiyonları primer enfeksiyon yerine göre sınıflandırıldığında en yükcek PCT değeri üriner sistem ve pelvis enfeksiyonlarında (5,05 ng/ml) ölçülmüştür. Bizim çalışmamızda enfeksiyonun primer yeri değerlendirilmediği için bu karşılaştırma yapılamamıştır. Kan kültüründe üreyen en sık gram negatif etkenler PCT düzeyine göre değerlendirildiğinde en yüksek düzey çalışmamıza benzer şekilde *E.coli* ve *K.pneumoniae'*de izlenmiştir. Aynı şekilde fermenter gram negatif basillerin etken olduğu bakteriyemilerdeki PCT düzeyi, nonfermenterlere göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur.

Leli ve ark. (27) tarafından 2015 yılında 1.949 hastada yapılan çalışmada kan dolaşımı enfeksiyonlarında gram negatif bakteri, gram pozitif bakteri ve mantar etkenlerinde ölçülen PCT değerleri araştırılmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde *E.coli* ve *S.aureus* en sık saptanan patojenler olmuştur. Kan kültüründe tespit edilen monomikrobiyal üremeler ikili karşılaştırmalar yapılarak değerlendirilmiştir. Gram negatif üremeleri gram pozitif üremelerden, gram negatif üremeleri fungal üremelerden ve gram pozitif üremeleri fungal üremelerden ayırmada 3 farklı PPD'si yüksek PCT cut-off noktası belirlenmiştir. Bu değerlendirmeler değerli olmakla birlikte iki etken arasından seçim yapılacak durumlar dışında çok faydalı olmayacaktır; çünkü kan kültürü gönderildiğinde sonuç gram pozitif, gram negatif

veya maya üremeli ya da üremesiz olabilmektedir. Bizim belirlediğimiz 1,34 ng/ml cut-off'u tüm bu seçenekler arasında bir tahmin yapmayı sağlamaktadır. Bu çalışmada da benzer şekilde en yüksek PCT düzeyi *K.pneumoniae* ve *E.coli*'de izlenmiş ve aynı şekilde nonfermenter gram negatif basillerde daha düşük PCT düzeyleri gözlenmiştir. Bu çalışmada anaeropları içeren bir önceki çalışmadan farklı olarak gram negatif bakteriler içinde en düşük PCT düzeyi anaeroplarda bulunmuştur. *Enterobacteriaceae*'yi nonfermenter gram negatif basillerden ayırmada belirledikleri 3,01 ng/ml PCT cut-off noktasının çalışmamıza benzer şekilde PPD'si (%91) yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bu ayrım için belirlenen PCT'nin 9,68 ng/ml cut-off değerinin PPD'si %85, CRP'nin 15,8 mg/dl cut-off değerinin PPD'si %89 bulunmuştur. Fermenter/nonfermenter gram negatif basil ayrımında bu cut-off noktalarının, kan kültürü örneğinden yapılan boyamada gram negatif basil görüldüğünde kültür üremesi beklenmeden yüksek PPD'si ile ampirik tedaviyi yönlendirici olması beklenmektedir.

Li ve ark. (28) tarafından 2012 yılında 55 hastada yapılan çalışmada PCT ve CRP'nin sepsis tanısındaki tanısal performansı araştırılmıştır. Hastalar sepsisli olanlar ve olmayanlar olarak iki gruba ayrılmıştır. Bu çalışmada sepsis tanısında CRP daha duyarlı bulunmuştur, bu sonucu CRP'nin lokal enfeksiyonlarda daha hassas bir belirteç olmasıyla açıklamışlardır. Literatürdeki diğer çalışmaların aksine CRP'nin NPD'si PCT'den yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da kan dolaşımı enfeksiyonunu dışlamada CRP daha hassas bir belirteç olarak bulunmuştur. Bu çalışmada daha ucuz ve kolay ulaşılabilen bir test olması sebebiyle CRP'nin, sepsis tanısı ve yönetiminde tercih edilmesi gerektiği; ama en yüksek sepsis tanısı başarısının PCT ve CRP'nin birlikte kullanımıyla gerçekleşeceği belirtilmektedir. Çalışmamızda hastaların sepsis kriterlerine uyumu belirlenemediği için sepsis tanısında biyobelirteçlerin tanısal performansı değerlendirilememiştir.

Aksaray ve ark. (29) tarafından 90 hastada yapılan çalışmada, araştırdığımız üç biyobelirteç ile birlikte sTREMS-1'in de sepsisin ayırıcı tanısındaki değeri araştırılmış; PCT ve sTREMS-1'in, skorlama sistemleri ile birlikte kullanıldığında sepsisli hastalarda iyi birer indikatör oldukları tespit edilmiştir. PCT'nin sepsiste

antimikrobiyal tedavi yönetiminde kullanılmasını öneren ve bunun için algoritmalar oluşturan birçok çalışma da bulunmaktadır (10).

Çalışmamızın bazı sınırlılıkları değerlendirilmiştir. Çalışmamız retrospektif olarak tasarlanmıştır. Hastaların klinik bilgilerine hasta takip sisteminden kısıtlı bir şekilde ulaşılabilmiş ve bu nedenle sepsis kriterlerinin varlığı değerlendirilememiştir. Araştırma süresi içerisinde eş zamanlı istenmiş belirteç düzeyi bulunan tüm kan kültürü üremeleri çalışmaya dahil edildiği için üreme grupları içerdikleri mikroorganizma sayısı açısından homojen olarak dağıtılamamıştır. PCT ve diğer belirteçlerin diyagnostik performansı sadece kan kültürü sonuçlarıyla değerlendirilmiş, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi pozitif sonuçların artabileceği yöntemler kullanılmamıştır. PCT ve CRP yarılanma ömürleri olan ve salınımları sırasında tepe noktasına ulaşıp zamanla azalan maddelerdir (12). Bu belirteçlerin kanda seri ölçümleri yapıldığı zaman tepe noktası tespit edilebilir. Çalışmamızda sadece kan kültürü ile eş zamanlı istenen biyobelirteç düzeyleri incelendiği için bu düzeylerin salınım sırasında hangi döneme denk geldiği bilinmemektedir ve bazı gram negatif organizmalarda izlenen düşük PCT düzeyleri bu nedenle gözlenmiş olabilir. Böbrek yetmezliği olan hastalarda PCT düzeyleri, normal bireylerden yüksek olarak seyretmektedir (12). Çalışma planlanırken dahil edilmeme kriterlerinde bu hastalar bulunmadığı için böbrek yetmezliği olan hastalar çalışma dışı bırakılmamıştır. PCT, CRP ve WBC kan kültürü enfeksiyonu dışında başka enfeksiyon hastalıklarında da yükselebilmektedir (12). Negatif kan kültürü grubundaki gözlenen bazı yüksek belirteç düzeyleri bu nedenle gözlenmiş olabilir.

6- SONUÇLAR

Bu çalışmada 2 yıllık süre içinde gönderilen 14.477 kan kültürü sonucu restrospektif olarak incelenmiştir. Bu verilerin içinden kan kültürü sonucu ile birlikte eş zamanlı istenmiş PCT, CRP ve WBC değerleri olan ve dahil edilme kriterlerine uygun 566 olgu üzerinden kan kültüründe üreyen mikroorganizmanın biyobelirteçler kullanılarak tahmininde duyarlılık ve özgüllük dengesi en iyi olan cut-off değerlerinin araştırıldığı çalışmamızdan elde edilen sonuçlar şu şekildedir:

1. Çalışmaya dahil edilen dönem içinde kan kültürü pozitiflik oranı %12,9'dur.

2. Çalışmaya dahil edilen kan kültürlerinin çoğu Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği'nden (%47,3) gönderilmiş; fakat bu kan kültürlerinin üreme yüzdesi düşük (%8,2) bulunmuştur. Kan kültürlerinin %20,1'lik kısımının gönderildiği Yoğun Bakım, üreme yüzdesi en yüksek olan (%99,1) klinik olarak bulunmuştur.

3. Çalışmaya dahil edilen kan kültürlerinin %46,6'sı üremeli, %53,4'ü üremesizdir. Üremeler içinde en sık üreyen bakteri grubu gram negatif basiller (%43,9), en sık üreyen bakteri ise *E.coli* (%17,0) olmuştur. PCT medianı en yüksek olan mikroorganizma türü *Klebsiella sp.* (10,0 ng/ml, IQR 1,9-50,1) olarak bulunmuştur.

4. PCT'nin 0,5 ng/ml değeri bakteriyemiyi en iyi tespit eden cut-off noktası olarak (0,47≈0,5 ng/ml) saptanmıştır. PCT'nin 0,5 ng/ml cut-off'u ve WBC'nin 12,5 10^3/µl değeri yüksek özgüllük ve PPD'leri ile kan kültürü üremesini tespit etmede, CRP'nin 0,5 mg/dl cut-off'u ise yüksek duyarlılık ve NPD'si ile üremeyi dışlamada yardımcı olmaktadır. Üç biyobelirteçin pozitiflik sınır değerlerinin altındaki düzeylerde yüksek NPD (%92,3) ile kan kültürü üremesi yüksek oranda dışlanmaktadır.

5. Negatif grubun PCT düzeyi, diğer gruplardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,001). Gram negatif grubun PCT düzeyleri, Gram pozitif ve Maya gruplarından anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p_1=0,001, p_2=0,001).

6. Negatif ve Maya grubunun CRP düzeyi, Gram negatif, Gram pozitif ve Polimikrobiyal gruplardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur

7. Negatif ve Maya grubunun WBC düzeyi, Gram negatif, Gram pozitif ve Polimikrobiyal gruplardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

8. Çalışmamızda gram negatif bakteri bulunan üremeleri diğer olgulardan ayırmada PCT'nin 1,34 ng/ml değeri en ideal cut-off noktası olarak seçilmiştir. PCT'nin 1,34 ng/ml cut-off değerinin duyarlılığı %74,7, özgüllüğü %73,8, PPD'si 48,9, NPD'si 89,7 olarak hesaplanmıştır. Bu cut-off değerinin negatif prediktif değeri yüksek olduğundan cut-off değerinin altında saptanan değerlerde gram negatif bakteriyemi büyük olasılıkla dışlanmaktadır.

9. Gram negatif bakteri bulunan üremeleri diğer olgulardan ayırmada PCT'nin 1,34 ng/ml cut-off değeri, CRP'nin 9,62 mg/dl cut-off değeri ile birlikte kullanıldığında duyarlılık %88,7'ye, NPD %94'e yükselmektedir.

10. Fermenter gram negatif grubun PCT ve CRP değeri nonfermenter gram negatif gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p_1=0,016; p_2=0,001). CRP'nin 15,8 mg/dl cut-off değerinin duyarlılığı %59, özgüllüğü %81,8, PPD'si 89,1, NPD'si 44,3 olarak hesaplanmıştır. PCT'nin 9,68 ng/ml cut-off değerinin duyarlılığı %48,2, özgüllüğü %78,8, PPD'si 85,1, NPD'si 37,7 olarak hesaplanmıştır. CRP ve PCT'nin bu cut-off değerleri birlikte kullanıldığında özgüllük %91,7'ye, PPD %93,6'ya yükselmektedir. Kan kültürü örneğinden yapılan Gram boyamada gram negatif basil görülmesi durumunda bu cut-off değerlerinin üzerinde saptanan düzeyler, ampirik antimikrobiyal tedaviyi yönlendirici olacaktır.

11. Septisemik hastalarda ampirik tedaviye antifungal ajan eklenmesi kararına yardımcı olmak üzere maya grubunu diğer monomikrobiyal üremelerden ayırmak amacıyla üç biyobelirteç karşılaştırılmıştır Bakteri üremesini maya

üremesinden ayırmada ROC analizi uygulanmış; PCT'nin 3,03 ng/ml, CRP'nin 10,32 mg/dl cut-off değeri birlikte kullanıldığında duyarlılığı %63,6, özgüllüğü %86,4, PPD'si 95,8, NPD'si 32,8 olarak hesaplanmıştır. Bu cut-off'ların birlikte kullanımı yüksek PPD'si ile maya enfeksiyonunu dışlamada önemli bulunmuştur. Fungemi sıklığının bakteriyemiye göre az olması dikkate alınarak yüksek kandidemi şüphesinde bu cut-off değerlerinin altındaki değerlerde maya enfeksiyonu varlığının düşünülmesi önerilmektedir.

12. Biyobelirteçler, enfeksiyon tanı, takip ve tedavisi sırasında kullanılan vazgeçilmez araçlardır. Bu kullanım alanları dışında, kan kültürü sonucu çıkana kadar üreyen mikroorganizma hakkında bir öngörü sağlayabilmeleri ampirik tedaviye başlaması gereken hekim için çok önemli olacaktır. Bu biyobelirteçler; üreme varlığının tespitinde, gram negatif bakteri üremesinin ve üreyen gram negatif bakterinin fermantasyon özelliğinin tahmininde ve fungemi/bakteriyemi ayrımında kullanılabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Rello J, Valenzuela-Sa´nchez F, Ruiz-Rodriguez M, Moyano S. Sepsis: A Review of Advances in Management. Adv Ther 2017; 34: 2393–2411. doi: 10.1007/s12325-017-0622-8

2. Başustaoğlu A, editör. Kan Kültürü Uygulama Kılavuzu. Ankara, 2013.

3. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlığı Derneği. Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberi: Kan Dolaşımı Örnekleri. Ankara, 2017.

4. Guo SY, MD, Zhou Y, Hu QF, Yao J, Wang H. Procalcitonin Is a Marker of Gram-Negative Bacteremia in Patients With Sepsis. Am J Med Sci 2015; 349(6): 499–504. doi: 10.1097/MAJ.0000000000000477

5. Pepys MB, and Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. The Journal of Clinical Investigation 2003; 111: 1805–1812. doi: 10.1172/JCI200318921

6. Blumenreich MS. The White Blood Cell and Differential Count. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd ed. Boston: Butterworths; 1990. p. 724-727.

7. Murray PR, Rosenthal KS, Phaller MA. Medical Microbiology. 8th ed. Canada: Elsevier; 2016. p. 170-201, 251-264, 272-279, 574-581.

8. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schrekenberger PC et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2017. p. 269-271, 317, 385-386.

9. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and

Septic Shock (Sepsis-3). JAMA 2016; 315(8): 801-810. doi: 10.1001/jama.2016.0287

10. Vijayan AL, Vanimaya, Ravindran S, Saikant R, Lakshmi S, Kartik R, Manoj G. Procalcitonin a Promising Diagnostic Marker for Sepsis and Antibiotic Therapy. Journal of Intensive Care 2017; 5:51. doi: 10.1186/s40560-017-0246-8

11. Meisner M. Procalcitonin: Experience With a New Diagnostic Tool for Bacterial Infection and Systemic Inflammation. J Lab Med 1999; 23: 263–272.

12. Samsudin I, Vasikaran SD. Clinical Utility and Measurement of Procalcitonin. Clin Biochem Rev 2017; 38(2): 59–68.

13. Bray C, Bell LN, Liang H, Haykal R, Kaiksow F, Mazza JJ et al. Erythrocyte Sedimentation Rate and C-reactive Protein Measurements. WMJ 2016; 115(6): 317-21.

14. Nehring SM, Patel BC. C Reactive Protein (CRP) [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls; 2019 [cited 2019 Mar 27]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441843/

15. Riley LK, Rupert J. Evaluation of Patients with Leukocytosis. Am Fam Physician 2015; 92(11): 1004-1011.

16. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Les Irwig L et al. STARD 2015 – An Updated List of Essential Items for Reporting Diagnostic Accuracy Studies. BMJ 2015; 351: h5527. PMID: 26511519

17. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. JAMA 2013; 310(20): 2191–2194. doi: 10.1001/jama.2013.281053

18. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the Areas Under Two or More Correlated Receiver Operating Characteristic Curves: A Nonparametric Approach. Biometrics 1988; 44: 837-45.

19. Wang H, Yin F, Shen DX, Zhang YJ, Luo YP, Liu CJ et al. Predictive Value of Procalcitonin for Excluding Bloodstream Infection: Results of a Retrospective Study and Utility of a Rapid, Quantitative Test. J Int Med Res 2013; 41(5): 1671-81. doi: 10.1177/0300060513497558

20. Bilgili B, Haliloğlu M, Aslan MS, Sayan İ, Kasapoğlu US, Cinel İ. Diagnostic Accuracy of Procalcitonin for Differentiating Bacteraemic Gram-Negative Sepsis from Gram-Positive Sepsis. Turk J Anaesthesiol Reanim 2018; 46(1): 38-43. doi: 10.5152/TJAR.2017.88965

21. Kim KE, Han JY. Evaluation of the Clinical Performance of an Automated Procalcitonin Assay for the Quantitative Detection of Bloodstream Infection. Korean J Lab Med 2010; 30(2): 153-9. doi: 10.3343/kjlm.2010.30.2.153

22. Oussalah A, Ferrand J, Filhine-Tresarrieu P, Aissa N, Aimone-Gastin I, Namour F et al. Diagnostic Accuracy of Procalcitonin for Predicting Blood Culture Results in Patients With Suspected Bloodstream Infection: An Observational Study of 35,343 Consecutive Patients (A STROBE-Compliant Article). Medicine (Baltimore) 2015; 94(44): e1774. doi: 10.1097/MD.0000000000001774

23. Qu J, L X, Liu Y, Wang X. Evaluation of Procalcitonin, C-reactive protein, Interleukin-6 & Serum Amyloid A as Diagnostic Biomarkers of Bacterial Infection in Febrile Patients. Indian J Med Res 2015; 141(3): 315-21.

24. Fu Y, Chen J, Cai B, Zhang J, Li L, Liu C at al. The use of PCT, CRP, IL-6 and SAA in Critically Ill Patients for an Early Distinction between Candidemia and Gram positive/negative Bacteremia. J Infect 2012; 64(4): 438-40. doi: 10.1016/j.jinf.2011.12.019

25. La Gioia A, Devito A, Fiorini F, Bombara M, Isola P, Spinale B et al. Cytographic Changes on BC-6800 Haematological Analyzer related to the Presence of Candida albicans in Peripheral Blood. A New Tool to Suspect Candidemia. J Clin Pathol 2017; 70(6): 494-499. doi: 10.1136/jclinpath-2016-204078

26. Yan ST, Sun LC, Jia HB, Gao W, Yang JP, Zhang GQ. Procalcitonin Levels in Bloodstream Infections Caused by Different Sources and Species of Bacteria. Am J Emerg Med 2017; 35(4): 579-583. doi: 10.1016/j.ajem.2016.12.017

27. Leli C, Ferranti M, Moretti A, Al Dhahab ZS, Cenci E, Mencacci A. Procalcitonin Levels in Gram-Positive, Gram-Negative, and Fungal Bloodstream Infections. Dis Markers. 2015; 2015: 701480. doi: 10.1155/2015/701480

28. Li HX, Liu ZM, Zhao SJ, Zhang D, Wang SJ, Wang YS. Measuring Both Procalcitonin and C-reactive Protein for a Diagnosis of Sepsis in Critically Ill Patients. J Int Med Res 2014; 42(4): 1050-9. doi: 10.1177/0300060514528483

29. Aksaray S, Alagoz P, Inan A, Cevan S, Ozgultekin A. Diagnostic Value of sTREM-1 and Procalcitonin Levels in the Early Diagnosis of Sepsis. North Clin Istanb 2016; 3(3): 175–182. doi: 10.14744/nci.2016.26023

ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Hatice Kübra Özhan

Doğum Yeri ve Tarihi: İnegöl/ 02.04.1989

Uyruğu: T.C.

Medeni Durumu: Evli

Askerlik Durumu: Muaf

İletişim Adresi ve Telefonu: Şirinevler Mah. Cengiz Topel Cad. Yakut2 Sok. No:15 Daire:8 Bahçelievler/İstanbul

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi

1. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi 2006-2012
2. İstanbul Atatürk Fen Lisesi 2003-2006
3. Özel Çamlıca Bilfen İlköğretim Okulu 2000-2003
4. İnegöl Şakir Lakşe İlkokulu 1995-2000

III- Mesleki Deneyimi

1. 11.11.2012 - 14.12.2012: Ardahan Devlet Hastanesi – Pratisyen Hekim
2. 18.12.2013 – Halen: İstanbul Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi – Tıbbi Mkrobiyoloji- Asistan Doktor

IV- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

1. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derneği
2. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği

V- Bilimsel Etkinlikleri

1. Özhan H.K., Sanmak E., Dinçer Ş., Toptan H., Aksaray S. İstanbul Anadolu Kuzey Kamu Hastaneler Birliği Merkez Laboratuvar'ına Yoğun Bakım Servisinden Gelen Kültür Sonuçlarının Karbapenem Direnci Açısından Diğer Kliniklerden Gelen Kültür Sonuçlarıyla Karşılaştırılması, 31. ANKEM Kongresi, Poster Bildiri
2. Özhan H.K., Aydın G., Doğan Ö., Balköse G., Boz E.S., Adaleti R., Aksaray S. Procalcitonin Values on Agent Basis in Patients Who Have Blood Culture Positivity, 10. Balkan Kongresi, Poster Bildiri
3. Özhan H.K., Adaleti R., Aksaray S. Hizmet Bölgemizdeki Brusella Seropozitifliğinin Yıllara Göre Dağılımı, 33. ANKEM Kongresi, Poster Bildiri
4. Özhan H.K., Doğan Ö., Adaleti R., Aksaray S. İki Yıllık Kan Kültürü Üremelerinin Değerlendirilmesi, 33. ANKEM Kongresi, Sözel Bildiri
5. Özhan H.K., Boz E.S., Adaleti R., Aksaray S. Prokalsitonin Değeri ile Kan Kültüründe Üreyen Mikroorganizmayı Tahmin Edebilir Miyiz? 38. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Sözel Bildiri
6. Kansak N., Aslan M., Adaleti R., Ceran N., Aydın G., Özhan K. (et al.) 2016-2018 Dönemi HIV Tarama ve Doğrulama Sonuçlarının Değerlendirilmesi 38. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Poster Bildiri

VI- Aldığı Burslar

1. 33. ANKEM Kongresi, Sözlü Bildiri Kayıt ve Konaklama Bursu

Şekil 14: Kan kültürü sonucunu tahmin etmede biyobelirteçlerin kullanımının akış şeması

VII- Katıldığı Paneller (panelist olarak)

1. Virüs Hastalıklarının Serolojik Tanısı, Cerrahpaşa Tıp Fak., 22.03.2014
2. Rehberimizi Birlikte Kullanalım: Üriner Sistem Örnekleri, Cerrahpaşa Tıp Fak. 25 Mart 2016
3. 12. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Şişli, Harbiye, 1-3 Nisan 2016
4. *Haemophilus influenzae* Çalıştayı, Bahçeşehir Üni., 9-10 Haziran 2017
5. Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Direnç Mekanizmaları Kursu, İstanbul Tıp Fak., 9-10 Eylül 2017
6. Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonların Tanısı, Bahçeşehir Üni., 30 Kasım 2017
7. Kan Kültürü ve Anaerop Mikrobiyoloji Bilimsel Toplantısı, Marmara Üni., 9 Şubat 2018
8. 13. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Acıbadem Üni., 6-8 Nisan 2018
9. Gastrointestinal Sistem Örneklerine Yaklaşım, Haydarpaşa Numune EAH, 27 Nisan 2018
10. 33. ANKEM Kongresi, Muğla, Fethiye, 2-6 Mayıs 2018
11. 38. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, 4-8 Kasım 2018
12. 38. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Sendromik Yaklaşımda Moleküler Test: FilmArray Kursu, Antalya, 4-8 Kasım 2018
13. 38. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Metagenomik Dizileme Verilerinin Biyoinformatik Analizi ve Bakteriyel Genom Dizileme Verilerinin Biyoinformatik Analizi Kursu, Antalya, 4-8 Kasım 2018
14. Sendrom Spesifik ve Gelecek Nesil Hızlı Moleküler Tanı Yöntemleri Uygulamalı Çalıştayı, Sağlık Bilimleri Üni., 28 Ocak 2019
15. Epidemiyoloji, Sağlık Bilimleri Üni., 17 Ekim 2018-30 Ocak 2019
16. II. *Haemophilus influenzae* Çalıştayı, Bahçeşehir Üni., 14 Haziran 2019
17. KLİMUD Okulları-5 Yaz Okulu 'Viral Enfeksiyonlarda Tanı, Raporlama ve Yorumlama', Giresun, 26-30 Haziran 2019
18. Tanısal Mikrobiyoloji'de Son Gelişmeler Paneli, Bilim Üni., 1 Temmuz 2019

EK1. TEZ KONUSU ONAY FORMU

Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı: **Telefon:** **E-Posta:**	Hatice Kübra Özhan 05557177790 haticekubra_sen@hotmail.com
Uzmanlık Dalı:	Tıbbi Mikrobiyoloji
Eğitim Kurumu:	TC. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haydarpaşa Numune SUAM
Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi:	18.12.2013
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi:	Eylül 2019
Tez Danışmanının Adı Soyadı: **Telefon:** **E-Posta:**	Sebahat Aksaray 05324253778 aksarays@hotmail.com

1-Tez Başlığı/Konusu: Prokalsitonin, C-Reaktif Protein ve Lökosit Değerlerinin Bakteriyemili Hastaların Kan Kültüründe Üreyen Mikroorganizma Türünün Tahmininde Kullanımı
2-Araştırma sorusu: Prokalsitonin, C-reaktif protein ve lökosit (WBC) değerleri kullanılarak kan kültüründe üreyen mikroorganizmayı tahmin edebilir miyiz?
3-Araştırmanın amacı: Kan dolaşımı enfeksiyonu belirtileri gösteren hastalarda enfeksiyona sebep olan mikroorganizmanın tespiti için kan kültürü testi çalışılmaktadır. Kan kültürü, kan dolaşımında bulunan mikroorganizmanın tespitinde altın standart bir test bir test olmasına rağmen sonucu en erken 24-48 saat arasında çıkmaktadır. Kan kültürü sonucunun çıkmasına kadar geçen sürede mikroorganizma tahmininde fikir verecek ve ampirik antimikrobiyal tedaviyi yönlendirecek bir test arayışı bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, serum prokalsitonin, C-reaktif protein ve lökosit (WBC) düzeyinin bakteriyemili hastaların kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmaların erken dönem tahmininde bir temsili belirteç olarak kullanılabilmesinin araştırılmasıdır.
4-Araştırma materyalleri, popülasyonu: 01.01.2016-01.01.2018 tarihleri arasında kan kültürü, prokalsitonin, C-reaktif protein ve lökosit istemleri olan hastaların arşiv bilgilerinden yararlanılacaktır. Hasta popülasyonu, Haydarpaşa Numune Hastanesi'ne başvuran 18 yaş üstü hastalardan oluşmaktadır.
5-Dahil etme ve hariç tutma kriterleri: Araştırılan tarihler arasında kan kültürü, prokalsitonin, C-reaktif protein ve lökosit (WBC) istemleri olan 18 yaş üstü hastalar çalışmaya dahil edilecektir. Hariç tutma kriterleri: -Malign tümör öyküsü (tiroid karsinomu, akciğer kanseri) -Lenfoproliferatif hastalık -İmmünsüpresyon -İmmün sistem hastalığı öyküsü (Still hastalığı, romatoid artrit, ankilozan spondilit, sistemik lupus erimatozus, vaskülit, multipl skleroz) -Hamilelik -<18 yaş -Bir hastanın aynı etken mikroorganizmayla üreyen diğer kan kültürleri -Kontaminasyon

6-Araştırmanın birincil sonuç değişkenleri: Kan kültürü, prokalsitonin, C-reaktif protein ve lökosit (WBC) değerleri
7-Araştırmanın türü ve tasarımı: Retrospektif gözlemsel araştırma
8- Araştırma hipotezi: Prokalsitonin, C-reaktif protein ve lökosit (WBC) değerleri kullanılarak kan kültüründe üreyen mikroorganizmayı tahmin edebiliriz.
9-Örneklem sayısı ve belirleme yöntemi: Tip 1 hata (α) %5 ve testin gücü %90 olacak şekilde toplam 111 hasta verisi olarak hesaplanmıştır. Örneklem hesabı Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, Version 3.01 (www.OpenEpi.com, updated 2013/04/06, accessed 2018/01/04) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.
10-Araştırmada kullanılacak istatistik yöntemler: Sürekli değişkenleri tanımlamak için deskriptif istatistikler kullanılacaktır. (ortalama, standart sapma, minimum, medyan, maksimum) Bağımsız ve normal dağılan iki sürekli değişkenin karşılaştırması Student t testi ile bağımsız ve normal dağılıma uygunluk göstermeyen iki değişkenin karşılaştırması Mann Whitney U testi ile yapılacaktır. Bağımsız ve normal dağılıma uyan iki gruba ait sürekli değişkenlerin karşılaştırması One-Way ANOVA testi ile bağımsız ve normal dağılıma uymayan ikiden fazla gruba ait sürekli değişkenlerin karşılaştırması Kruskal Wallis testi ile yapılacaktır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlenmiştir. Analizler MedCalc Statistical Software version 12.7.7 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; http://www.medcalc.org; 2013) Programı kullanılarak gerçekleştirilecektir.
11-Araştırmanın orijinalliği ve bilime katkısının açıklaması: Kan kültürü bakteriyemi tanısında altın standart testtir; fakat kan kültürünün sonuçlanması için en az 24-48 saat gereklidir; bu sırada hastanın inflamasyon belirteçlerine bakılarak etken tahmininde bulunmak, hastalığın seyri ve antimikrobiyal tedavi başlanması konusunda klinisyene yol gösterici olacaktır.
12-Açıklamak istediğiniz diğer konular:

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Sebahat Aksaray
Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı
İdari ve Eğitim Sorumlusu

Kontrol edilmiştir ve uygundur.
İmza

EK2. ETİK KURUL KARAR FORMU

HAYDARPAŞA NUMUNE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2012-KAEK-47) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Prokalsitonin, C-Reaktif Protein ve Lökosit Değerlerinin Bakteriyemili Hastaların Kan Kültütründe Üreyen Mikroorganizma Türünün Tahmininde Kullanımı
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	01.02.2018 versiyon:1

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Tıbbiye Cad.No:40 Üsküdar/İSTANBUL
	TELEFON	0216 542 32 32/ 1156
	FAKS	0216 414 45 24
	E-POSTA	haydarpasaetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Sebahat AKSARAY			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZI VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☒		
		Diğer ise belirtiniz:Retrospektif			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	01.02.2018	1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGE	Belge Adı		Açıklama	
	SİGORTA	☐		

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.M.İhsan KARAMAN
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

HAYDARPAŞA NUMUNE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2012-KAEK-47) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Prokalsitonin, C-Reaktif Protein ve Lökosit Değerlerinin Bakteriyemili Hastaların Kan Kültüründe Üreyen Mikroorganizma Türünün Tahmininde Kullanımı
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	01.02.2018 versiyon:1

	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	Özgeçmişler, Literatür,Klinik İzin Belgesi
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:** HNEAH-KAEK 2018/20 HNEAH-KAEK 2018/ 20	**Tarih: 12.02.2018**	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik ve Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

HAYDARPAŞA NUMUNE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	**Prof.Dr.M.İhsan KARAMAN**

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr. M. İhsan KARAMAN	Üroloji	İstanbul Medeniyet Üniversitesi	E☒	K☐	E☐	H☒	E☐	H☐	
Doç.Dr. Çağatay NUHOĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Haydarpaşa Numune Eğt. ve Arş. Hastanesi	E☒	K☐	E☐	H☒	E☐	H☐	
Doç.Dr.Sebahat AKSARAY	Tıbbi Mikrobiyoloji	Haydarpaşa Numune Eğt. ve Arş. Hastanesi	E☐	K☒	E☐	H☒	E☐	H☐	
Doç.Dr. Berna TERZİOĞLU BEBİTOĞLU	Tıbbi Farmakoloji	İstanbul Medeniyet Üniversitesi	E☐	K☒	E☐	H☒	E☐	H☐	
Prof.Dr.N.Emel LÜLECİ	Halk Sağlığı	Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi	E☐	K☒	E☐	H☒	E☐	H☐	
Doç.Dr. M.A. Tolga MÜFTÜOĞLU	Genel Cerrahi	Haydarpaşa Numune Eğt. ve Arş. Hastanesi	E☒	K☐	E☐	H☒	E☐	H☐	
Op.Dr.Murat SARGIN	Kalp ve Damar Cer.	Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cer. Hastanesi	E☒	K☐	E☐	H☒	E☐	H☐	
Doç.Dr. Seyhan HIDIROĞLU	Halk Sağlığı	Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi	E☐	K☒	E☐	H☒	E☐	H☐	
Doç.Dr.Barış GÜNGÖR	Kardiyoloji	Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cer. Hastanesi	E☒	K☐	E☐	H☒	E☐	H☐	
Yard.Doç.Dr.Cevdet NACAR	Biyofizik	Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi	E☒	K☐	E☐	H☒	E☐	H☐	
Doç.Dr.Fisun VURAL	Kadın Doğum	Haydarpaşa Numune Eğt. ve Arş. Hastanesi	E☐	K☒	E☐	H☒	E☐	H☐	
Yard.Doç.Dr.Mehmet ERBAKAN	Aile Hekimliği	Haydarpaşa Numune Eğt. ve Arş. Hastanesi	E☒	K☐	E☐	H☒	E☐	H☐	
Doç.Dr.Kadir KAYATAŞ	İç Hastalıkları	Haydarpaşa Numune Eğt. ve Arş. Hastanesi	E☒	K☐	E☐	H☒	E☐	H☐	
Av. Selim DURMAZ	Hukuk	Durmaz Hukuk ve Danışmanlık Ofisi	E☒	K☐	E☐	H☒	E☐	H☐	
Tanzer İLBAY	Sivil Üye	Haydarpaşa Numune Eğt. ve Arş. Hastanesi	E☒	K☐	E☐	H☒	E☐	H☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.M.İhsan KARAMAN
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.