

# Sepsis Şüphesi Olan Hastalarda LightCycler® SeptiFast Testinin Tanı Değeri

Şule ÇOLAKOĞLU\*, Meryem COŞAR BULAT\*\*, Tuba TURUNÇ\*\*\*

\*Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

\*\*Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı

\*\*\*Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

## ÖZET

**Amaç:** Sepsis hastalarında patojenin erken tanısı mortaliteyi azaltmak için çok önemlidir. Nükleik asit amplifikasyon teknikleriyle kanda bakteriyel ve mantar patojenlerin tespiti, kan kültürüne göre daha hızlı sonuç alınmasını sağlar. Bu çalışmada, ticari bir multiplex ve polimerize zincir reaksiyonu sisteminin (SeptiFast), sepsis şüphesi olan hastalarda tanı değerini inceledik. SeptiFast testi sonuçlarını kan kültürü sonuçlarıyla karşılaştırdık.

**Gereç ve Yöntem:** Üçüncü basamak sağlık hizmeti veren bir hastanede, sepsis şüphesi olan hastalardan alınan kan örneklerinin BACTEC 9240TM sisteminde kan kültürü ve LightCycler® SeptiFast testi analizi yapıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya alınan 126 hastadan toplam 252 kan örneğinde, toplam uyumlu sonuç oranı %85.7'dir. SeptiFast testinde pozitiflik oranı kan kültürüne göre fazladır (%19.8'e karşılık %11.9  $p<0.001$ ).

**Sonuç:** Özellikle kritik hastalarda SeptiFast testinin kan kültürüyle birlikte çalışılması, daha fazla patojen saptanmasında ve etkenin hızlı tespitinde yararlı olmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Sepsis, SeptiFast, tanı

## SUMMARY

**Diagnostic Value of the LightCycler® SeptiFast Assay in Patient with Presumed Sepsis**

**Objective:** Early identification of pathogens is crucial to decrease mortality in patients with sepsis. Detection of bacterial and fungal pathogens in blood by nucleic acid amplification techniques yields faster results than blood cultures. In this study we analyzed the diagnostic value of a commercially available multiplex polymerase chain reaction system (SeptiFast) in patients with suspect sepsis. SeptiFast assay results were compared with corresponding blood culture results.

**Material and Method:** Blood samples collected from patients with suspect sepsis at a tertiary care hospital were cultured with BACTEC 9240TM system and analysed with LightCycler® SeptiFast assay.

**Results:** Of 252 blood samples from 126 patients, the rate of concordance between LightCycler® SeptiFast Assay and blood culture was 85.7%. The rate of positivity was higher in LightCycler® SeptiFast Assay than blood culture (19.8% vs 11.9%;  $p<0.001$ ).

**Conclusion:** The performance of SeptiFast multiplex polymerase chain reaction together with conventional blood cultures especially in critically ill patients has a relevant impact on the detection of greater number of pathogens and faster identification of the causative agent.

**Key words:** Sepsis, SeptiFast, diagnosis

## GİRİŞ

Sepsis, enfeksiyona karşı konağın enflamatuvar yanıtından kaynaklanan klinik bir sendromdur. Özellikle yoğun bakım hastalarında zamanında antimikrobiyal tedavi başlanmaz ise ciddi mor-

taliteye neden olur. Uygulanacak antimikrobiyal tedavi, etken mikroorganizma ve antibiyotik duyarlılık bilgilerini sağlayan kan kültürü sonuçlarına göre düzenlenir. Son yıllarda kan kültürü tekniklerinde ki gelişmelere rağmen, hâlen çoğu olguda sonuçlar uzun zaman da alınmaktadır.

**Alındığı tarih:** 15.01.2016

**Kabul tarihi:** 14.03.2016

**Yazışma adresi:** Şule Çolakoğlu, Dadaloğlu Mah. Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi, Yüreğir / Adana  
**e-posta:** sulcolakoglu@yahoo.com

Pozitif sonuçlar en çabuk 48-36 saat içinde alınırken, kültürün negatif olduğu en az 5 günün sonunda belli olmaktadır. Kan kültürünün diğer bir dezavantajı ise, özellikle antibiyotik alan hastalarda, tanısal duyarlılığının düşük olmasıdır<sup>(1-4)</sup>.

Sepsis de klinik belirtilerin görülmesinin ardından saatler içinde doğru ve hızlı tanısal bilgi sağlayabilecek tekniklerin geliştirilmesi için yeni yaklaşımlar (klinik biyobelirteçler, algoritmalar ve moleküler tanı testleri gibi) üzerine çalışmalar yapılmaktadır<sup>(5)</sup>.

Moleküler tanı testlerinin, hızları ve yüksek duyarlılıklarından dolayı gittikçe patojen tanımlanmasında önemi artmaktadır. LightCycler® SeptiFast (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Almanya), sepsis şüphesi olan hastaların kan örneklerinde 4-6 saatte doğrudan patojen DNA'sını tespit edebilen ve Conformité Européenne (CE) marka onayı alan gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) temelli ilk tanısal testtir<sup>(5)</sup>. SeptiFast (SF) testi, sepsis etkeni en önemli 25 patojeni (Tablo 1) tanımlayabilir. Analitik duyarlılığı, üretici firma tarafından *Candida glabrata*, *Streptococcus* spp. ve koagülaz negatif stafilokok (KNS) için 100 cfu/ml, diğer mikroorganizmalar için 30 cfu/ml olarak belirtilmiştir. Geniş tanımlama kapasitesiyle, kısa sonuç verme süresiyle ve firmanın belirttiği gibi yük-

sek duyarlılık ve özgüllüğüyle, bu tür moleküler metodlar sepsis tanısında kan kültürüne güven veren alternatifler olabilir<sup>(2)</sup>.

Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Hastanesi Moleküler Laboratuvarı'nda Ocak 2013 tarihinden itibaren SF testi rutin olarak uygulanmaktadır. Biz bu çalışmada, sepsis şüphesi olan hastalarda, SF testinin tanısal doğruluğunu kan kültürü sonuçlarıyla karşılaştırarak retrospektif olarak değerlendirdik. Ayrıca, laboratuvar bulgularını (enfamasyon belirteçleri, kan örneklerinden veya diğer örneklerden elde edilen mikrobiyolojik bilgileri) uyumsuz sonuçların değerlendirilmesinde kullandık.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 2013 ile Mart 2014 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (576 yataklı üçüncü basamak sağlık hizmeti veren bir hastane) sepsis şüpheli hastaların laboratuvar bilgileri retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmaya, hem kan kültürü hem de SF testi için kan örnekleri (en fazla 12 saat ara ile) alınan hastalar dâhil edilmiştir. Yalnızca kan kültürü veya SF testi için kan örneği alınan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. SF testi uygulama kararı, tedavi eden doktor ya da enfeksiyon hastalıkları uzmanı tarafından verilmiştir.

**Tablo 1. SeptiFast® tarafından tespit edilen patojenler.**

Gram negatif bakteriler	Gram pozitif bakteriler	Mantar patojenleri
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Koagülaz negatif stafilokok*	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Streptococcus spp**</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Proteus mirabilis</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
<i>Acinetobacter baumannii</i>		
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		

\**S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. xylosus*, *S. hominis*, *S. cohnii*, *S. lugdunensis*, *S. saprophyticus*, *S. capitis*, *S. pasteurii*, *S. warneri*'yi içerir.

\*\**S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. anginosus*, *S. bovis*, *S. constellatus*, *S. cristatus*, *S. vestibularis*, *S. gordonii*, *S. intermedius*, *S. milleri*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. thermophilus*, *S. parasanguinis*'i içerir.

**Tablo 2. SF ve/veya kan kültürü pozitif olgularda mikrobiyolojik ve laboratuvar bilgi.**

No	SF	Kan kültürü	Diğer kültür	BK (K/mm <sup>3</sup> )	PCT (ng/ml)	CRP (mg/L)
1	<i>S. maltophilia</i>	KNS		10.19	12.4	181.7
2	<i>S. pneumoniae</i>	Negatif		13.31	0.94	174.5
3	KNS	Negatif		13.5		72.9
4	KNS	Negatif		5.22		50.5
5	KNS	KNS		0.06		270.9
6	<i>E. coli</i>	Negatif	İdrar: Gram negatif basil (<1000 cfu/ml)	16.02		229.3
7	<i>A. baumannii, P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>		10.84	1.58	83.2
8	<i>S. aureus, E.coli</i>	Negatif		9.03	88.59	99.7
9	<i>K. pneumoniae/oxytoca</i>	Negatif		0.05		165
10	<i>C. parapsilosis</i>	Negatif		19.2	2.31	90.1
11	<i>K. pneumoniae/oxytoca</i>	Negatif		8.7	2.8	137.85
12	<i>E. cloacae/aerogenes</i>	<i>E. cloacae</i>		11.64	78.3	61.5
13	KNS	Negatif	Kateter: KNS	0.28		
14	Negatif	KNS		1.7	0.06	13
15	KNS	KNS	Kateter: KNS	0.28		
16	KNS, <i>P. aeruginosa</i>	Negatif		5.03		152
17	<i>C. glabrata</i>	KNS		15.71	16.12	
18	<i>E. coli, S. maltophilia</i>	<i>E. coli</i>		0.29	9.04	221
19	<i>E. coli</i>	Negatif		5.59		135
20	Negatif	<i>C. krusei,</i> <i>C. parapsilosis</i>		2.64		91.6
21	KNS	KNS		3.16		>221
22	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>		9.51	2.17	191
23	<i>K. pneumoniae/oxytoca</i>	Negatif		0.24		114
24	<i>C. tropicalis, E. coli</i>	<i>C. tropicalis</i>		0.27		>221
25	<i>K. pneumoniae/oxytoca</i> KNS	Negatif		4.3		128
26	Negatif	KNS	İdrar: KNS	16		4.18
27	<i>K. pneumoniae/oxytoca</i>	<i>K. pneumoniae</i>		13.7	22.96	85.6
28	<i>K. pneumoniae/oxytoca</i>	<i>K. pneumoniae</i>		0.03		

PCT: 0.02-0.05: <0.5 ng/ml düşük riskte ağır sepsis ve/veya septik şoku temsil eder.

>2.0 ng/ml yüksek riskte ağır sepsis ve/veya septik şok temsil eder.

CRP: 0.00-6.00 mg/L

BK: 4.5-11.00 K/mm<sup>3</sup>

ABY: akut böbrek yetmezliği, KBY: kronik böbrek yetmezliği

Kan örnekleri standart prosedürlere uygun olarak alınmıştır. Kan kültürü için aerobik kan kültürü şişelerine yaklaşık 10 ml, SF testi için ek olarak K2-EDTA tüplerine (Vacutainer®, Becton Dickinson, Birleşik Krallık) yaklaşık 2 ml kan alınmıştır.

Kan kültürü şişeleri, mikrobiyoloji laboratuvarında BACTEC 9240 (Becton Dickinson, Almanya) sisteminde 5 gün inkübe edilmiştir. Pozitif saptanan şişelerde, mikroorganizmalara standart laboratuvar prosedürleri (Gram boyama, Gram boyama sonuçlarına göre selektif

olmayan ve selektif besiyerlerine pasaj, immünojenik, biyokimyasal ve enzimatik testlerle patojenin tanımlanması, disk difüzyon testiyle duyarlılık testi) uygulanmıştır. Tek bir kan kültürü şişesinde koagülaz negatif stafilokok (KNS) üreyen kan örnekleri kontaminasyon olarak değerlendirilmiş ve çalışmaya kan kültürü sonucu negatif olarak kaydedilmiştir.

SeptiFast testi, moleküler laboratuvarında ticari firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Test çalışması, örneğin hazırlanması (mekanik parçalama ve DNA saflaştırması), RT-PCR amplifikasyonu, hibridizasyon proplarıyla bakteriyel ve mantar DNA'sının saptanması ve örnek kontrollerin otomatik olarak tanımlanmasını (SIS [SeptiFast Identification Software] programı) içermektedir. SF testi için kullanılan kan miktarı ticari firmanın önerileri doğrultusunda 1.5 ml'dir. Örneğin, mekanik parçalanması MagNA Lyser cihazında SeptiFast Lys Kit MGRADE kiti kullanılarak yapılmıştır. Her çalışmada negatif ve pozitif kontrol kullanılmış ve internal kontrol her örneğe DNA saflaştırmasından önce konulmuştur. DNA amplifikasyonu LightCycler 2.0 cihazında üç farklı RT-PCR reaksiyonu (Gram pozitif bakteri, Gram negatif bakteri ve mantar) ile gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlarda, bakterinin 16S ve 23S ribozomal RNA dizisi arasında lokalize "the internal transcribed spacer region" (ITS) ve mantarın 18S ve 5.8S ribozomal RNA dizisi hedef olarak kullanılmıştır. Tür tanımlaması SF tanımlama yazılımı ile "melting curve" (Tm) analizi yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Kan kültürü ve SF test sonuçları (Tablo 2), örneklerin pozitifliği ve tespit edilen mikroorganizmalar açısından ayrı ayrı karşılaştırılmıştır. Diğer mikrobiyolojik kültür (idrar ve kateter kültürü) ve laboratuvar test sonuçlarının retrospektif değerlendirilmesi, uyumsuz sonuçların doğrulanmasında kullanılmıştır. Retrospektif analizde kullanılan ek laboratuvar bilgileri, aynı hastalık epizodu içinde farklı zamanlarda ( $\pm 3$

gün) alınan diğer örneklerden elde edilen mikrobiyolojik bulgular, aynı zamanda kan örneklerinin alındığı aynı gün beyaz küre (BK), prokalsitonin (PCT) ve C reaktif protein (CRP) sonuçlarıdır.

İstatistiksel analiz için SF ve kan kültürü sonuçları arasındaki farklılık, Pearson ki-kare testi kullanılarak değerlendirilmiştir. p değeri  $<0.05$  olan istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Araştırmada aşağıdaki tanımlar kullanıldı:

SeptiFast testi için gerçek pozitiflik; SF pozitif, kan kültürü uyumlu pozitif/negatif, diğer mikrobiyolojik kültürlerle desteklenen olgular.

SeptiFast testi için yalancı pozitiflik; SF pozitif ve kan kültürü uyumsuz pozitif/negatif olgular.

SeptiFast testi için gerçek negatiflik; SF ve kan kültürü negatif olgular.

SeptiFast testi için yalancı negatiflik; SF negatif kan kültürü pozitif olgular.

Kan kültürü pozitif olgular: Patojen mikroorganizmanın kan kültürü ile tespit edildiği olgular. En az iki ayrı kan kültüründe deri flora bakterilerinin ürediği olgular.

Kan kültürü kontaminasyonu: Yalnızca bir kan kültürü şişesinde deri flora bakterilerinin ürediği olgular.

## BULGULAR

Sepsis şüphesi olan 126 hastadan toplam 252 kan örneği çalışmaya alındı. Hastaların %42.1'i (53/126) hematoloji servisinden, %19.8'i (25/126) yoğun bakım ünitesinden ve %38.1'i (48/126) hastanenin diğer bölümlerinden (beyin cerrahisi, genel cerrahi, ortopedi, kardi-

yoloji, enfeksiyon, endokrin, kadın doğum, yeni doğan, üroloji ve diyaliz). Hastalar ya klinik olarak sepsis veya septik şok tanısı almış veya bilinen bir etiyolojik ajan olmadan ateşi olan hastalardı. Hastaların ortalama yaşı 50 (0 ile 85 arası), %59.5 (75/126)'u erkek ve % 40.5 (51/126)'u kadındı.

Çalışmaya alınan 126 hastanın 28'inde (%22.2) SF ve/veya kan kültürü pozitifliği vardı (Tablo 2). Kan kültürü ile 15 hasta (%11.9) ve SF testiyle 25 hasta (%19.8) pozitif olarak saptanmıştır (p<0.001).

Kan kültürü (16) ve/veya SF (31) ile toplam 37 mikroorganizma tespit edilmiştir (Tablo 2, 3). Kan kültürü ile SF testinin uyumlu pozitif sonuç (aynı mikroorganizmanın saptandığı) oranı %27 (10/37)'dir. Hastaların 98 (uyumlu negatif sonuç, %77.8)'i her iki teknikle de negatif saptanmıştır. Kan kültürü ve SF testinin toplam uyumlu sonuç oranı %85.7 ((10+98)/126)'dir.

SeptiFast test sonuçları kan kültürü sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, SF testinin duyarlılığını %80, özgüllüğünü %88.3, pozitif kestirim değerini (PPV) %48 ve negatif kestirim değerini (NPV) %97 olarak saptanmaktadır.

Birden fazla mikroorganizma saptama oranı, SF için %21.4 (6/28) ve kan kültürü için %3.6 (1/28)'dir (p<0.001).

Laboratuvarımız için, SF testi ile mikroorganizma tanımlanma süresi örnek kabul edildikten sonra ortalama 2.3 gün (5-54 saat) olarak bulunmuştur.

## TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, hastanemizde yatan ve sepsis şüphesi olan hastalarda kan kültürü ve SF test sonuçlarını karşılaştırarak, SF testinin potansiyel klinik değerinin değerlendirilmesidir. Çalışmamızda, SF testinin kan kültürüyle birlikte çalışılmasının, daha fazla patojen saptanmasında ve etkenin hızlı tespitinde yararlı olduğu sonucuna vardık.

SeptiFast testinin rutin kullanımında en önemli problem, testin duyarlılığının beklenenin altında olmasıdır. Yapılan çalışmalarda SF testinin özgüllüğü yüksek (%93.5-98.4) ve duyarlılığı değişken oranlarda (%78-85) bulunmaktadır<sup>(1,2,6-8)</sup>. Çalışmamızda, yalnızca kan kültürü sonuçlarıyla karşılaştırdığımızda SF testinin

**Tablo 3. Kan kültürü (KK) ve/veya SeptiFast® (SF) ile tespit edilen mikroorganizmalar.**

Mikroorganizma	SF+KK+, n (%)	SF+KK-, n (%)	SF-KK+, n (%)	Toplam, n (%)
<b>Gram pozitif</b>	<b>4 (26.7)</b>	<b>7 (46.6)</b>	<b>4 (26.7)</b>	<b>15 (40.5)</b>
KNS	3	5	4	12
<i>S. aureus</i>	1	1	0	2
<i>S. pneumoniae</i>	0	1	0	1
<b>Gram negatif</b>	<b>5 (29.4)</b>	<b>12 (70.6)</b>	<b>0</b>	<b>17 (46)</b>
<i>K. pneumoniae/oxytoca</i>	2	4	0	6
<i>E. coli</i>	1	4	0	5
<i>E. cloacae/aerogenes</i>	1	0	0	1
<i>P. aeruginosa</i>	0	2	0	2
<i>A. baumannii</i>	1	0	0	1
<i>S. maltophilia</i>	0	2	0	2
<b>Mantar</b>	<b>1 (20.0)</b>	<b>2 (40.0)</b>	<b>2 (40.0)</b>	<b>5 (13.5)</b>
<i>C. parapsilosis</i>	0	1	1	2
<i>C. glabrata</i>	0	1	0	1
<i>C. tropicalis</i>	1	0	0	1
<i>C. krusei</i>	0	0	1	1
<b>Toplam</b>	<b>10 (27)</b>	<b>21 (56.8)</b>	<b>6 (16.2)</b>	<b>37</b>

duyarlılığını %80, özgüllüğünü %88.3, PPV %48 ve NPV %97 olarak saptadık. Test sonuçlarını, diğer mikrobiyolojik ve laboratuvar bulgularıyla değerlendirdiğimizde ise SF testinin duyarlılığı %84.2, özgüllüğü %91.6 ve PPV'i %64 olarak artış göstermektedir.

Yapılan çalışmalar, ateş değerlendirilmesinde kan kültürü negatif ama SF testi pozitif sonuçların klinik bulgular ve enflamatuvar biyobelirteçlerle birlikte değerlendirilmesini önermektedir<sup>(2,9,10)</sup>. SF testi gibi sepsis tanısında geliştirilen yeni moleküler tekniklerle ilgili en önemli sorun, değerlendirmede kullanılabilecek gerçekçi bir tanimsal altın standard metodun olmamasıdır. Hâlen bu enfeksiyonların tanısında altın standard olarak kabul edilen kan kültüründe negatif sonuç, devam eden antimikrobiyal tedavi veya dolaşımdaki küçük mikrobiyal yükten dolayı olabilir. Pozitif kan kültürü sonuçları kontaminasyona bağlı olabilir.

Bu nedenle, SF testinin sadece kan kültürüyle karşılaştırılması yanlış istatistiksel hesaplamalara neden olabilmektedir. Lodes ve ark.<sup>(11)</sup> kan kültürü veya ek bir örnekle doğrulanamayan ama SF testi ile mikroorganizma saptanan olgularda (%39), prokalsitonin plazma düzeyinin anlamlı ölçüde yükseldiğini göstermiştir. Böylece, kan kültürü ve diğer testlerde desteklenmeyen pozitif SF sonuçlarının sepsisin işareti olabileceği vurgulanmaktadır. Ayrıca, çalışmamızda diğer çalışmalarla uyumlu olarak, yalnızca SF testi pozitif olan grupta, hem SF hem de kan kültürü pozitif olan grup ile benzer olarak enflamatuvar belirteç seviyelerinde ciddi bir artış olduğu görülmektedir<sup>(1)</sup>.

Klinik bulguların ve enflamatuvar belirteçlerin desteklemediği tek bir SF testi pozitifliği, kontaminasyon, geçici mikroorganizma varlığı ve/veya devam eden antibiyotik tedavinin etkisi nedeniyle ölü mikroorganizmalara ait DNA'dan kaynaklanabilmektedir<sup>(8)</sup>. Çalışmamızda, SF

testi pozitif ve kan kültürü negatif olup, diğer laboratuvar bulgularıyla desteklenmeyen 6 olgu saptanmıştır. SF testinde KNS saptanan iki olgu, deri florasından kontamine olmuş olabilir. *K. pneumoniae/oxytoca*<sup>(2)</sup>, *P. aeruginosa* ve *E. coli* saptanan dört olguyu hesaplamalarımızda yalancı negatif olarak değerlendirmiş olmakla birlikte, elimizde enflamatuvar belirteç ve klinik bulgular olmadığı için gerçekçi bir değerlendirme yapamadık.

Moleküler testlerin sahip olduğu dezavantajlardan biri kontamine DNA yı tespit ederek gerçek patojen DNA nın saptanmasının etkilenmesidir. Lucignano ve ark.<sup>(6)</sup> yaptığı çalışmada, SF testinin kontaminasyon oranı (%1.8), kan kültürüne göre (%20.6) daha düşüktür. West ve ark.<sup>(12)</sup> ise bu oranı SF testi için %2.2, kan kültürü için %3.9 bulmuştur.

Çalışmamızda kan kültürü ve SF testi sonuçları arasında iyi bir uyum (%85.7) saptanmıştır. West ve ark.<sup>(12)</sup> %79, Mancini ve ark.<sup>(13)</sup> bu oranı %83, Dierkes ve ark.<sup>(14)</sup> %77, Maubon ve ark.<sup>(15)</sup> %70 ve Mauro ve ark.<sup>(16)</sup> %65.6 olarak saptamıştır.

Çalışmamızda, diğer çalışmalarla uyumlu olarak SF testiyle kan kültürüne göre yaklaşık iki kat fazla pozitiflik (SF testi [%19.8] kan kültürü [%11.9]) ve mikroorganizma saptanması (SF testi [n=31] ve kan kültürü [n=16]) sağlanmıştır (p<0.001)<sup>(1,6,12,14,16-18)</sup>. Ayrıca, SF testinin (%21.4) polimikrobiyal enfeksiyonları bulma oranının da, kan kültüründen (%3.6) daha yüksek olduğunu saptadık (p<0.001).

Dierkes ve ark.<sup>(14)</sup>, SF testinin kullanılmasının, sepsis şüphesi olan hastaların yaklaşık %8'inde tedaviye erken başlanmasını sağladığını göstermiştir. Lehmann ve ark.<sup>(19)</sup> yaptığı çalışmada ise, tek başına kan kültürü pozitifliği %21.2 olarak bulunurken, SF testi ile birlikte değerlendirildiğinde, klinik ilişkili mikrobiyolojik bulgular

%72'ye yükseldiği saptanmıştır.

Kan kültürüyle patojenlerin tanımlanması en kısa 12-48 saattir. Negatif sonuç için ise 5 gün beklenmektedir. Laboratuvarımızda, SF testi saat 8.00 ile 17.00 (haftada 5 gün) arasında çalışmaktadır. Çalışmamızda SF testi ile mikroorganizma tanımlama süresi örnek kabul edildikten sonra ortalama 2.3 gündür (5-54 saat)'dür.

İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da, diğer çalışmalarla<sup>(1)</sup> uyumlu olarak SF testinde Gram negatif bakteriler (%46) açısından daha fazla pozitif olgu saptadık.

Moleküler metodlar özellikle mantar gibi yavaş üreyen türlerin tespitinde kullanışlıdır. Herne ve ark.<sup>(1)</sup> yaptıkları çalışmada SF'in *C. albicans* için yüksek tespit oranını bulmuşlardır. Çalışma sayımız az olmakla birlikte, toplam 5 maya mantarı (*C. parapsilosis* [n=2], *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*)'ndan 3'ü (*C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*) SF testi ile saptanabilmiştir.

SeptiFast testi ile bir olguda *S. maltophilia*, bir başka olguda *C. glabrata* tespit edilirken, kan kültüründe her iki olguda KNS saptanmıştır. Bu olgular için kan kültüründe saptanan KNS sonuçları kontaminasyon olabileceği yorumunu yapabiliriz.

Lamoth ve ark.<sup>(9)</sup> yaptığı çalışmada, SF testi sonuçlarında 1/3 oranında yalancı negatiflik saptamıştır. Yalancı negatif SF testi sonuçları, analitik spektrumunda yer almayan mikroorganizmalar, primer veya problemlerin bağlandığı hedef DNA'daki değişkenlik, analitik eşik değer uygulamasından dolayı KNS ve streptokoklar için tanı duyarlılığının düşük olması ve yüksek mikroorganizma yükü, paradoks olarak moleküler inhibisyona neden olabilir<sup>(6,9-11,19,20)</sup>. Ayrıca, SF testinde (1.5 ml) kan kültürüne (10 ml) göre daha düşük düzeyde kan kullanılması yalancı negatif sonuçların önemli bir nedenidir. Klinik

olarak ciddi bakteriyemilerin çoğunluğu dolayısıyla düşük bakteri sayısı ile karakterizedir. SF testi için alınan örnek miktarı artırılarak, testin düşük düzey bakteriyemi olgularında patojeni tespit edebilme oranı artırılabilir<sup>(19,21)</sup>.

Çalışmamızda, kan kültürü pozitif, SF negatif üç olgunun ikisinde kan kültüründe klinik olarak anlamlı KNS suşu saptanmıştır. Bunun nedeni SF testi için alınan kan miktarının az olması, SF testinde KNS için uygulanan yüksek eşik değeri olabilir. SF testinde analitik eşik değeri uygulaması testin tanılabilir kapasitesini ciddi anlamda düşürmektedir. Bununla birlikte, eşik değerin uygulanmaması tanılabilir değeri arttırmakla birlikte yalancı pozitif sonuçları da arttıracaktır<sup>(13)</sup>. Kan kültüründe *C. krusei* ve *C. parapsilosis* üreyen ama SF negatif olgu bilinmeyen olarak kalmıştır. Bu olguda, SF testi için yalancı negatifliğe neden olan nedenleri düşünmekteyiz.

Çalışmamızın sınırlamalarından birisi, SF ve kan kültürü sonuçları ile antibiyotik tedavisi, tedaviye yanıt ve klinik sonuca etki arasındaki ilişkinin bakılmamış olmasıdır. Ayrıca, bu çalışmada SF testinin maliyeti hesaplanmamıştır.

Sonuç olarak, yeni PZR temelli testler günümüzde tamamen kan kültürünün yerini alamaz çünkü henüz olası tüm patojenler tanımlanmamakta ve antibiyogram yapılamamaktadır. Bununla birlikte, kan kültürüne ek olarak SF testinin kullanılması enfeksiyonun etiyolojik dokümantasyonunun zamanını ve performansını iyileştirmektedir. SF testi, durumu ciddi hastalarda (Örneğin, nötropenik hastalar) enfeksiyon tedavisine yeni bir yaklaşım getirmektedir. Yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular ışığında, multipleks PCR tekniklerinin kan kültürüyle kombine edilmesi, febril nötropenik kan kültürü negatif hastaların enfeksiyonları açısından önemli bilgiler verecektir. Ayrıca, tedaviye erken başlanması, hastanede kalış süresini etkileyerek tedavi maliyetini de düşürecektir.

## KAYNAKLAR

1. **Herne V, Nelovkov M, Kütt M, Ivanova M.** Diagnostic performance and therapeutic impact of LightCycler SeptiFast Assay in patients with suspected sepsis. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)* 2013; 3:68-76. <http://dx.doi.org/10.1556/EuJMI.3.2013.1.10>
2. **Chang SS, Hsieh W-H, Llu TS, et al.** Multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis - A systemic review and meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8:e62323. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0062323>
3. **Bravo D, Blanquer J, Tormo M, et al.** Diagnostic accuracy and potential clinical value of the LightCycler SeptiFast assay in the management of bloodstream infections occurring in neutropenic and critically ill patients. *Int J Infect Dis* 2011; 15:e326-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2011.01.003>
4. **Casalta JP, Gouriet F, Roux V, Thuny F, Habib G, Raoult D.** Evaluation of the LightCycler SeptiFast test in the rapid etiologic diagnostic of infectious endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28:569-73. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-008-0672-6>
5. **Dark P, Dunn G, Chadwick P, et al.** The clinical diagnostic accuracy of rapid detection of healthcare-associated bloodstream infection in intensive care using multipathogen real-time PCR technology. *BMJ Open* 2011; 1:e000181. <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2011-000181>
6. **Lucignano B, Ranno S, Liesenfeld O, et al.** Multiplex PCR allows rapid and accurate diagnosis of bloodstream infections in newborns and children with suspected sepsis. *J Clin Microbiol* 2011; 49:2252-8. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02460-10>
7. **Tsalik EL, Jones D, Nicholson B, et al.** Multiplex PCR to diagnose bloodstream infectious in patients admitted from the emergency department with sepsis. *J Clin Microbiol* 2010; 48:26-33. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01447-09>
8. **Wallet F, Nseir S, Baumann L, et al.** Preliminary clinical study using a multiplex real-time PCR test for the detection of bacterial and fungal DNA directly in blood. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16:774-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02940.x>
9. **Lamoth F, Jatou K, Prod'homme G, et al.** Multiplex blood PCR in combination with blood cultures for improvement of microbiological documentation of infection in febrile neutropenia. *J Clin Microbiol* 2010; 48:3510-6. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00147-10>
10. **Josefson P, Strålin K, Ohlin A, et al.** Evaluation of a commercial multiplex PCR test (SeptiFast) in the etiological diagnosis of community-onset bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30:1127-34. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-011-1201-6>
11. **Lodes U, Bohmeier B, Lippert H, König B, Meyer F.** PCR-based rapid sepsis diagnosis effectively guides clinical treatment in patients with new onset of SIRS. *Langenbecks Arch Surg* 2012; 397:447-55. <http://dx.doi.org/10.1007/s00423-011-0870-z>
12. **West H, Lisby G, Breyse, et al.** Multiplex real-time PCR and blood culture for identification of bloodstream pathogens in patients with suspected sepsis. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15:544-51. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02736>
13. **Mancini N, Clerici D, Diotti R, et al.** Molecular diagnosis of sepsis in neutropenic patients with haematological malignancies. *J Med Microbiol* 2008; 57:601-4. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.47732>
14. **Dierkes C, Ehrenstein B, Siebig S, Linde HJ, Reisch U, Salzberger B.** Clinical impact of a commercially available multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis. *BMC Infect Dis* 2009; 9:126. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-9-126>
15. **Maubon D, Hamidfar-Roy R, Courby S, et al.** Therapeutic impact and diagnostic performance of multiplex PCR in patients with malignancies and suspected sepsis. *J Infect* 2010; 61:335-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2010.07.004>
16. **Mauro MV, Cavalcanti P, Perugini D, Noto A, Sperli D, Giraldi C.** Diagnostic utility of LightCycler SeptiFast and procalcitonin assays in the diagnosis of bloodstream infection in immunocompromised patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; 73:308-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.04.006>
17. **Bloos F, Hinder F, Becker K, et al.** A multicenter trial to compare blood culture with polymerase chain reaction in severe human sepsis. *Intensive Care Med* 2010; 36:241-7. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-009-1705-z>
18. **Rath PM, Saner F, Paul A, et al.** Multiplex PCR for rapid and improved diagnosis of bloodstream infections in liver transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2012; 50:2069-71. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00745-12>
19. **Lehmann LE, Hunfeld KP, Steinbrucker M, et al.** Improved detection of blood stream pathogens by real-time PCR in severe sepsis. *Intensive Care Med* 2010; 36:49-56. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-009-1608-z>
20. **Pasqualine L, Mencacci A, Leli C, et al.** Diagnostic performance of a multiplex real-time PCR assay in patients with suspected sepsis hospitalized in an internal medicine ward. *J Clin Microbiol* 2012; 50:1285-8. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.06793-11>
21. **von Lilienfeld-Toal M, Lehmann LE, Raadts AD, et al.** Utility of a commercially available multiplex real-time PCR assay to detect bacterial and fungal pathogens in febrile neutropenia. *J Clin Microbiol* 2009; 47:2405-10. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00491-09>