



T.C
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

YENİDOĞAN SEPSİSİNİN ERKEN TANISINDA 16S rRNA GENİ VE EŞ
ZAMANLI (REAL-TIME) POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONUNUN ROLÜ

Dr. Kenan İSTANBULLU

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2012



T.C

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

YENİDOĞAN SEPSİSİNİN ERKEN TANISINDA 16S rRNA GENİ VE EŞ
ZAMANLI (REAL-TIME) POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONUNUN ROLÜ

Dr. Kenan İSTANBULLU

Danışman: Prof. Dr. Fatma Nilgün KÖKSAL

Bursa-2012

İÇİNDEKİLER

Özet	ii
İngilizce Özet	iii
Giriş.....	1
Gereç ve Yöntem.....	30
Bulgular.....	37
Tartışma ve Sonuç.....	49
Kaynaklar.....	59
Kısaltmalar.....	68
Teşekkür.....	70
Özgeçmiş.....	71

ÖZET

Yenidoğan dönemindeki mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden birisi yenidoğan sepsisidir. Yenidoğan sepsisi tanısında altın standart kan kültürüdür ve kan kültürünün duyarlılığı düşüktür. Bu nedenle yenidoğan sepsisinin erken tanısının konulması ve tedavisine erken dönemde başlanması çok önemlidir. Bakteriyel 16S rRNA geni ve PCR gibi moleküler tetkikler, yenidoğan sepsis erken tanısında kullanılacak muhtemel yeni tanısal araçlardır. Çalışmamızda yenidoğanda bakteriyel sepsisin erken tanısı için 16S rRNA geni ve eş zamanlı PCR yöntemi ile BACTEC 9240 sistemi arasındaki ilişki araştırıldı.

Çalışmaya sepsis grubunda 59 erkek, 41 kız toplam 100 hasta; kontrol grubunda 25 erkek 25 kız olmak üzere toplam 50 hasta alındı. Olguların ortalama doğum ağırlığı sepsis grubunda 2063 ± 942 gram, kontrol grubunda ise 2776 ± 668 gram olarak saptandı. Olguların ortalama gestasyonel yaşları sepsis grubunda 34 ± 4.5 hafta, kontrol grubunda 37 ± 1.6 hafta olarak bulundu.

Sepsis grubunda kan kültürü pozitif 7 hasta, negatif 93 hasta vardı. PCR sonucu pozitif 3 hasta vardı. PCR kiti, kan kültürü pozitif 7 mikroorganizmanın sadece ikisini tespit edebiliyordu. Hem kan kültürü pozitif hem de PCR sonucu pozitif sadece 1 hasta vardı. Kan kültürü kontrol alınarak hesaplanan PCR sensitivitesi % 50, spesifitesi % 97.8, pozitif prediktif değeri % 33.3, negatif prediktif değeri ise % 98.9 olarak hesaplandı.

Sonuç olarak bu çalışmada sepsis açısından değerlendirilen bebeklerin örneklerinde eş zamanlı PCR incelemesinin performansı ile ilgili sınırlı bilgi sağlamaktadır. Eş zamanlı PCR incelemesinin klinik duyarlılığı ile pozitif belirleyici değerin uygun şekilde değerlendirilmesi için kullanılan eş zamanlı PCR kitinde tanımlanan bakterilerin tür ve sayısının artırılması gerekmektedir ve daha fazla sayıda, iyi tanımlanmış bebek topluluğuna sahip prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Yenidoğan, sepsis, polimeraz zincir reaksiyonu

SUMMARY

The role of 16S rRNA gene and real time polymerase chain reaction in early diagnosis of neonatal sepsis

Neonatal sepsis is one of the main causes of morbidity and mortality during neonatal period. Blood culture is gold standard for diagnosis and its sensitivity is low. As before the result of blood culture, clinical deterioration may occur, early diagnosis and treatment is crucial. Molecular techniques like Bacterial 16S rRNA gene and PCR are possible new diagnostic tools to be used for the diagnosis of neonatal sepsis. In our study the relationship between 16S rRNA gene, PCR and BACTEC9240 system for the diagnosis of neonatal sepsis was evaluated.

In the study, sepsis group consisted of 100 patients (59 males and 41 females) and control group consisted of 50 patients (25 males and 25 females). Mean birth weight was 2063 ± 942 gram at the sepsis group and 2776 ± 668 at the control group. Mean gestational age was 34 ± 4.5 weeks at the sepsis group and 37.1 ± 1.6 at the control group.

There were 7 positive and 93 negative in sepsis group. Three patients had positive PCR results. There was only 1 patient which had both positive blood culture and PCR amplification. Only 2 of the 7 microorganisms in blood culture results could be detected by PCR's kit. Using blood culture as control, PCR sensitivity was 50%, specificity was 97.8%, positive predictive value was 33.3% and negative predictive value was 98.8%.

As a result, this study shows limited evidence about performance of PCR study for evaluating neonates for sepsis. In order to evaluate the performance of synchronized PCR study in neonates with suspected neonatal sepsis, the number of identified bacteria in the PCR kit should be more and prospective studies with larger, well defined study groups should be made.

Key words: Newborn, sepsis, polymerase chain reaction.

GİRİŞ

Yenidoğan sepsisi yaşamın ilk 28 gününde enfeksiyon etkeninin endojen veya ekzojen bir kaynaktan invazyonu sonucu oluşan, çeşitli klinik semptomlarla karakterize sistemik bir hastalıktır. Yenidoğan sepsis tanı ve tedavisindeki bütün gelişmelere rağmen hala yenidoğan dönemindeki mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden birisidir (1 - 3).

Dünya Sağlık Örgütü'nün 1996 verilerine göre dünyada 126 milyon bebeğin doğduğu, bunlardan 30 milyonunda enfeksiyon görüldüğü ve 1.5 - 2 milyonunun bu nedenle kaybedildiği sanılmaktadır (4). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı verilerine göre, bebek ölüm hızı 1998'de 77/1000, 2006'da 36/1000 olarak bildirilmektedir. Bursa ilinde 2006 yılında bebek ölüm hızı; erken neonatal dönemde 3.6/1000, geç neonatal dönemde 1.27/1000 olarak bildirilmektedir. Bir yaşından küçük çocuklarda ölüm hızı 7.4/1000 olarak belirtilmektedir (5).

Gelişmiş ülkelerde kanıtlanmış yenidoğan sepsisi sıklığı 1000 canlı doğumda 1 - 8'dir. Gelişmekte olan ülkelerde ise yenidoğan sepsisi sıklığı 1000 canlı doğumda 5.5 - 170 olup sepsis sıklığı gelişmiş ülkelerden daha fazladır (6 - 12). Mortalite oranı erken sepsis için % 10 - 20, geç sepsis için % 5 - 10, çok geç başlangıçlı sepsis için % 5'in altında olarak bildirilmektedir (6). Çok düşük doğum ağırlıklı (ÇDDA) prematüre bebeklerde erken sepsisin mortalitesi % 35, geç sepsisin mortalitesi ise % 17 - 19'dur (13, 14).

Yenidoğan ölümlerinin yaklaşık üçte birinin nedeni şiddetli enfeksiyonlardır. Ancak klinik bulguları ile sepsis olduğu düşünülen yenidoğanların çoğunun kan kültürlerinde üreme tespit edilememektedir. Bu nedenle yenidoğan sepsisinin erken tanısının konulması ve tedavisine erken dönemde başlanması çok önemlidir (6 - 10).

Yenidoğan sepsisi klasik olarak belirti ve bulguların başlama zamanına göre erken başlangıçlı sepsis, geç başlangıçlı sepsis mikrobiyolojik etkenin izole edilip edilememesine göre kanıtlanmış (kan kültüründe bakteri üremesi var) ve klinik sepsis (kan kültüründe bakteri üremesi yok) olarak

sınıflandırılmaktadır. Erken başlangıçlı sepsiste belirti ve bulgular yaşamın ilk 72 saati içinde, geç başlangıçlı sepsiste ise yaşamın ilk 72 saatinden sonra (4 - 30. günler arasında) başlar (6, 7). Son yıllarda prematüre ve ÇDDA olan bebeklerin yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde uzun dönem yatmalarına bağlı olarak yaşamının 30 gününden sonra gelişen sepsisi tanımlamak için çok geç başlangıçlı sepsis bu sınıflamaya dahil edilmiştir (5).

Yenidoğanlar, özellikle de prematüre bebeklerin bağışıklık sistemi henüz tam gelişmemiştir. Hücrel ve humoral bağışıklık sistemleri zayıftır. İmmünglobülin G dışındaki immünglobülinlerin düzeyi oldukça düşüktür. Sekresyonlarda IgA bulunmamaktadır. Spesifik patojenlere karşı yeterli immünglobülin bulunmaz, mukozal kolonizasyon kolayca gelişir. Kompleman aktivitesi yetersiz olması nedeniyle kemotaktik faktör yapımı ve bakterilerin opsonizasyonla öldürülmesi yetersizdir. Yenidoğan polimorfonükleer lökositlerin kemotaksis, fagositoz ve bakterileri öldürme kapasiteleri zayıftır. Ayrıca yenidoğanların, özellikle prematüre bebeklerin nötrofil depo havuzları ve kemik iliğinden nötrofil yapım kapasiteleri azdır. Monosit konsantrasyonları erişkindeki düzeylerdedir, fakat makrofaj kemotaksis yetenekleri azdır. T hücre işlevlerinde ciddi bir yetersizlik yoktur. Ancak yenidoğanlarda mononükleer hücrelerin doğal bağışık yanıtları (Th1 hücreleri uyaran TNF - α ve IFN - γ salınımı) oldukça azdır, buna karşın antiinflamatuvar etkisi olan Th2 hücreleri uyaran IL - 6 gibi sitokin salınımı yetenekleri kısmen daha iyidir. Tüm bu özellikler doğum sonrası dönemde yenidoğanın enfeksiyonlar karşısında zayıf olmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle özellikle düşük doğum ağırlıklı (DDA) ve prematüre bebeklerde sepsis riski daha fazladır (7, 15 - 17).

İntrauterin dönemde mikroorganizmalar ile karşılaşmayan bebeğin potansiyel patojenler ile ilk teması membranlar açıldıktan sonra doğum kanalından geçerken olur. Doğum kanalında birçok farklı türden mikroorganizma (aerob ve anaerob bakterilerin yanı sıra mikoplazma ve üreoplazma gibi bakteriler, klamidyalar, viruslar, mantarlar) bulunur. Erken sepsis genellikle asendan yolla kontamine olan amnion sıvısının vertikal geçişle bebeği enfekte etmesi veya annenin alt genital yolundaki bakteri

kolonizasyonu veya enfeksiyon nedeniyle doğum sırasında bebeğin enfekte olması nedeniyle olur. Erken sepsise neden olan mikroorganizmalar genellikle doğum sırasında, kolonize veya enfekte durumdaki doğum kanalından kazanılır ve bu mikroorganizmalar genitoüriner ve gastrointestinal sistem kaynaklı bakterilerdir. Ayrıca erken sepsis etkenleri bazen doğumdan önce doğum kanalından asendan yolla (koryoamnionit) veya hematogen yolla (transplasental) yolla bebeğe bulaşabilir (6, 7, 11,15 - 19).

Korioamnionit amniotik sıvının mikrobik invazyonu ile ve sıklıkla uzamış membran rüptürü sonucu meydana gelir. Bazen amniotik enfeksiyon intakt olan membranlarla yada çok kısa süreli membran yırtılması ile de görülebilir. Amniotik sıvı enfeksiyonu asemptomatik olabilir veya annede korioamnionitin sistemik bulgularının eşlik ettiği veya etmediği ateşle birlikte olabilir. Korioamnionitli annede taşikardi, fetaltaşikardi, uterus hassasiyeti, pürülan ve kötü kokulu amniyotik sıvı, lökositoz gibi klinik ve laboratuvar bulguları oluşur. Annede 38°C üzerindeki ateşle birlikte yukarıdaki bulgulardan en az ikisinin varlığında korioamnionit tanısı konur (20).

Membran rüptürünün süresi korioamnionit gelişim riski ile direkt olarak ilişkilidir. Korioamnionit gelişim riski gestasyonel yaş ile ters, membran yırtılması süresi ile doğru orantılıdır. Membranların açılmasından doğuma kadar geçen sürenin 24 saatten daha uzun olması uzamış membran rüptürü olarak kabul edilir ve korioamnionit ve/veya yenidoğan sepsisi için risk oluşturur (21).

Erken sepsis riskini arttıran başlıca faktörler prematürelilik, DDA (doğum ağırlığının 2500 gramın altında olması) veya ÇDDA (doğum ağırlığının 1500 gramın altında olması), erken membran rüptürü (EMR), koryoamnionit ve annenin doğum kanalının *grup B streptococcus* (GBS) ile kolonizasyonudur. Gebelik haftası 37 haftanın altında olan bebeklerde erken sepsis riski term bebeklere göre 10 - 15 kat daha fazladır. EMR doğumdan en az 18 saat önce olması asendan enfeksiyonlara zemin hazırlayarak sepsis riskini yaklaşık 10 kat artırır (6). EMR'li anne bebeklerinde kültürle kanıtlanmış sepsis oranı term bebekte % 1, prematüre bebekte % 4 - 6, EMR ile birlikte beşinci dakika Apgar skoru 6'dan az olması durumunda

kanıtlanmış sepsis riski % 3 - 4 olarak bildirilmektedir. Korioamnionit varlığında sepsis insidansı % 3 - 8, beraberinde GBS kolonizasyonu varsa sepsis riski % 20'ye yükselmektedir (20). GBS ile maternal kolonizasyonda, komplikasyon yoksa ve antibiyotik verilmediğinde sepsis riski % 1'dir, ancak EMR, annede ateş ve prematüre doğum varlığında sepsis riski % 4 - 7'ye yükselir (20). GBS ile kolonize annelere doğumdan 4 saat önce intrapartum antibiyotik profilaksisi (penisilin veya ampisilin) sepsis riskini anlamlı oranda azaltır (6, 20). Term erkek bebeklerde yenidoğan sepsis insidansı kız bebeklerin 2 katıdır (6, 23).

Diğer risk faktörleri, annenin gebeliği sırasında idrar yolu enfeksiyonu (İYE) geçirmesi, GBS bakteriürisi, intrapartum ateş (38°C veya üzeri), EMR'li bebekte perinatal asfiksi (beşinci dakika Apgar skorunun altıdan düşük olması), yenidoğanın ikizinde GBS hastalığı olması, GBS ile kolonize bir gebede daha önce; GBS enfeksiyonu geçirmiş bebek öyküsü bulunmasıdır (6, 7, 11, 15 - 19).

Geç sepsis iki mekanizmayla gelişebilir. Birincisi maternal vertikal bulaşma ile bebekte önce kolonizasyon (deri, solunum yolu, konjonktivalar, sindirim sistemi, göbek) olur, sonrasında geç enfeksiyon gelişebilir. İkincisi ise bebeğin bulunduğu çevreden doğrudan temas yoluyla enfekte olmasıdır. Bebeğin deri veya mukoza bütünlüğünün bozulması (girişimsel işlemler nedeniyle) sepsis riskini artırır. Maternal obstetrik komplikasyonlarla ilişkili geç sepsis gelişimi sık görülmeyen bir durumdur. Fakat doğum sırasında forseps kullanımı, intrauterin monitörizasyon için elektrot yerleştirilmesi bebeğin deri ve mukoza bütünlüğünün bozulmasına neden olan risk faktörleridir. Geç sepsis etkenleri doğum kanalından, doğumdan sonra hastane veya toplumdaki kazanılabilir. Bebeğin yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatması, uzun süre hastanede yatma, uygulanan invaziv girişimler (sık kan alınması, entübasyon, ventilasyon, vasküler kateterizasyon), kortikosteroid kullanımı, hemşire/hasta oranının düşük olması, yetersiz ve uygunsuz enfeksiyon kontrol önlemleri, hasta sayısının fazlalığı ve total parenteral beslenme, enfeksiyon kontrol yöntemlerine uyulmaması gibi nedenler hastane kaynaklı geç yenidoğan sepsisi riskini artırır (6, 7, 9, 11,

,15 - 19, 20). Ayrıca geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı dirençli mikroorganizmalar ile enfeksiyon ve sepsis riskini artırır (6, 24 - 26).

Çok geç başlangıçlı sepsis doğumdan sonra haftalarca hastanede izlenen prematüre ve çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde görülür. Multisistemik veya fokal tutulum görülebilir (6,21).

Erken yenidoğan sepsisine en sık neden olan patojenler GBS ve *Escherichia coli* (*E. coli*)'dir. Bu patojenler genellikle annenin vajinal ve/veya rektal florasından kazanılır. Grup A, C ve G streptokoklar, *viridans streptokoklar*, *Listeria monositogenes* (*L. monositogenes*), *Enterokoklar*, *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), *Haemophilus influenza* (*H. influenza*) daha az sıklıkta görülen etkenlerdir. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Klebsiella* ve *Enterobacter* türleri, *koagülaz negatif stafilokoklar*, *Pseudomonas* türleri erken sepsise nadiren yol açan patojenlerdir. Gelişmekte olan ülkelerde erken sepsise gram pozitif bakterilerden çok gram negatif bakteriler yol açmaktadır; *klebsiella* türleri, *S. aureus* ve *E. coli* erken sepsisli vakalarda en sık izole edilen patojenlerdir, bunları GBS izlemektedir (6, 7, 28, 29). Ülkemizde erken sepsiste en sık görülen patojenlerin *klebsiella* türleri, *koagülaz negatif stafilokoklar* ve *S. aureus* olduğu bildirilmiştir (30, 31).

Geç sepsise en sık yol açan etkenler *koagülaz negatif stafilokoklardır*. *S. aureus*, *Enterokok türleri*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* ve *Enterobakter türleri*, *E. coli*, *Candida türleri* ve *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan diğer bazı bakteri türleri (*citrobacter*, *proteus*, *serratia*) geç sepsisin önemli etkenleridir. GBS, *L. monositogenes* ve *Aspergillus türleri* de geç sepsise neden olabilir (6, 7, 12, 20, 29). Ülkemizde geç sepsis vakalarında en sık izole edilen patojenin *koagülaz negatif stafilokoklar* olduğu, bunu *Klebsiella türleri*, *E. coli*, *S. aureus*, *Candida* ve *Enterobacter* türlerinin izlediği bildirilmiştir (30, 32). Ülkemizden yapılan bazı çalışmalarda da kan kültürü ile kanıtlanmış nozokomiyal yenidoğan sepsisinde en sık *Klebsiella türlerinin* izole edildiği, diğer önemli etkenlerin *Serratia türleri*, *koagülaz negatif stafilokoklar*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* ve *Candida* olduğu bildirilmiştir (23, 33). Nozokomiyal infeksiyonların önlenmesinde el yıkama

önemlidir, invazif girişimlerin ve ventilasyon sürelerinin mümkün olduğu kadar azaltılması gerekir (24).

Yenidoğan sepsisinin belirti ve bulguları genellikle nonspesifiktir; erken sepsiste genellikle, geç sepsiste ise sıklıkla multisistemiktir. Klinik bulgular başlangıçta hafif olabilir, kolay fark edilmeyebilir ve yavaşça ortaya çıkabilir. Bunun tersine sepsis bulguları akut olarak da gelişebilir ve bebeğin genel durumu hızla bozulabilir. Geç sepsiste fokal enfeksiyon bulguları olabilir (6, 7, 9, 11, 19, 20).

Sepsis belirti ve bulguları vücut sıcaklığı değişiklikleri (ateş, hipotermi), bebeğin iyi görünmemesi, solunum sıkıntısı bulguları (takipne, apne, siyanoz, inleme, huzursuzluk, burun kanatlarının solunuma katılması, göğüs duvarında çekilmeler, inleme), kalp-dolaşım bulguları (taşikardi/bradikardi, hipotansiyon, solukluk, periferik dolaşım bozukluğu, kapiller geri dolun zamanında uzama, nabızlarda zayıflık, idrar çıkarmada azalma), nörolojik bulgular (letarji, huzursuzluk, hipotoni/hipertoni, yenidoğan reflekslerinin azalması veya kaybolması, fontanel bombeliği, nöbetler), gastrointestinal sistem ve beslenme ile ilgili bulgular (emmede azalma, kusma, abdominal distansiyon, ishal, hepatomegali, splenomegali), sarılık (indirekt ve/veya direkt bilirübinde artış), deri bulguları (alacalı görünüm, purpura, döküntü, eritem, ödem, peteşiler), metabolik bulgular (metabolik ve/veya solunumsal asidoz, hipoglisemi, hipoksi), hematolojik bulgular (peteşi, purpura ve kanamalar)'dır. Yenidoğan sepsisine eşlik edebilen fokal enfeksiyonlar sellülit, impetigo, yumuşak doku abseleri, omfalit, konjunktivit, otitis media, menenjit, septik artrit ve osteomyelittir (6, 7, 9, 11, 19, 20).

Yenidoğan sepsisi, doğum sırasında ve sonrasında ortaya çıkan erken distres bulguları ile kendini gösterebilir. Doğum sırasında ortaya çıkan fetal taşikardi erken yenidoğan sepsisine yol açan intraamniyotik enfeksiyonun neden olduğu fetal distres bulgusu olabilir. Bebeğin mekonyumlu doğması diğer bir fetal distres bulgusudur; bebekte sepsis riskini iki kat artırır. Doğumdan sonraki ilk dakikalarda neonatal distres ile ilişkili olan düşük apgar skoru yenidoğan sepsisinin bir bulgusu olabilir. Apgar skoru altı ve daha altında olan bebeklerde, Apgar skoru yedi ve daha

üzerinde olan bebeklere göre sepsis gelişme riski 36 kat daha fazladır (6, 7, 9, 11, 19, 20).

Erken sepsisli yenidoğanların % 90'dan fazlasında belirtiler yaşamın ilk 24 saatinde (bir kısmında doğumdan hemen sonra), diğerlerinde ise 48. saatten önce ortaya çıkar. Erken sepsiste vakaların çoğunda pnömoni ve buna bağlı solunum sıkıntısı bulunur. Pnömoni erken sepsislerde daha sık görülürken, menenjit ve bakteriyemi geç sepsislerde daha sıktır (6, 7, 9, 11, 19, 20).

Günümüzde yenidoğan sepsisine % 100 duyarlılıkta ve % 100 özgüllükte tanı konulabilmesini sağlayan bir laboratuvar yöntemi bulunmamaktadır. Sepsis tanısı için kullanılan özgül incelemelerin (kültürler) her zaman güvenilir olmaması veya hızlı sonuç vermemesi, özgül olmayan laboratuvar testlerinden hiçbirinin tek başına sepsisi yüksek doğrulukta kesinleştirememesi veya dışlayamaması, ayırıcı tanıda çok sayıda hastalık ve durumun yer alması yenidoğan sepsisine erken ve kesin tanı konulmasını zorlaştırmaktadır. Kültürlerin sonuçlanması zaman alır ve duyarlılıkları % 100 değildir, özgül olmayan testler ise yenidoğanların yönetiminde yardımcı oldukları için sepsisten şüphelenildiğinde hem kan kültürü (ve gerekli ise diğer kültürler) alınmalı hem de tarama testleri yapılmalıdır. Bu nedenle yenidoğanlarda klinik belirti ve bulgulara göre sepsis tanısı konulur konulmaz antibiyotik tedavisine başlanır, bir yandan da tanıyı desteklemek için laboratuvar incelemeleri yapılır (6, 7, 16, 20, 34, 35).

Spesifik tanı incelemeleri (kültürler) sepsisi kanıtlamak, spesifik olmayan tarama yöntemleri ise enfeksiyon/sepsis olasılığını değerlendirmek için uygulanır. Herhangi bir steril vücut sıvısında (kan, BOS, idrar, eklem sıvısı) spesifik bir patojenin üretilmesi sepsis tanısını kesin olarak koydurur. Bir veya daha fazla kan kültüründe bir patojenin (bakteri veya fungus) izole edilmesi sepsis tanısında altın standarttır. Tarama testleri ise antibiyotik tedavisine başlanmasına ve kesilmesine karar vermede yardımcı olur (6, 7, 16, 20, 34, 35).

Yenidoğan sepsisinin birçok hastalık ile ayırıcı tanısının yapılması gerekir. Konjenital kalp hastalığı (KKH), persistan pulmoner hipertansiyon

(PPH), metabolik hastalıklar, gastrointestinal sistem (GİS) anomalileri, intrakranial kanama, hipoksik iskemik ensefalopati (HİE), respiratuar distress sendromu (RDS), aspirasyon pnömonisi, akciğer hipoplazisi, trakeoösefagal fistül, yenidoğanın geçici takipnesi ayırıcı tanıda düşünülmelidir (7, 12, 29).

Kan kültürü sepsis tanısında altın standarttır. Bununla birlikte yenidoğan sepsisinde duyarlılığı en fazla % 50 - 80'dir. Annenin antibiyotik kullanması erken sepsiste bebekte kan kültüründe bakteri üreme olasılığını azaltır. Bebeğe antibiyotik başlandıktan sonra kan kültürü alınması, alınan kan hacminin az olması, sepsisin erken evrelerinde bakteriyeminin geçici olabilmesi veya koloni sayısının az olması kültür yöntemlerinin duyarlılıklarını azaltır. Kan kültüründe üreme olması sepsis tanısını kesinleştirir, ancak bakteri ürememesi sepsis olmadığı anlamına gelmez (6, 7, 20, 36).

Yenidoğan menenjitleri genellikle hematojen yolla gelişir ve sepsis ile birlikte olabilir. Menenjitin geç sepsise eşlik etme olasılığı erken sepsise eşlik etme olasılığına göre daha yüksektir, bakteriyel nedenle gelişen erken ve geç yenidoğan sepsislerinin % 10 - 20'sinde aynı etkenle menenjit gelişir. Yenidoğan sepsisinde olduğu gibi yenidoğan menenjiti de spesifik olmayan belirti ve bulgularla kendini gösterir. Bakteriyel menenjiti olan yenidoğanların yaklaşık üçte birinde kan kültüründe bakteri üremektedir. Yenidoğanın bakteriyel menenjitinde % 20 - 50 oranında nörolojik komplikasyon görülür ve menenjit için önerilen tedavi süresi (14-21 gün) yalnızca sepsis için önerilen tedavi süresinden daha uzundur. Bu nedenle sepsisi olan bir yenidoğanda klinik belirti ve bulgular ile menenjitten şüphe edilirse septik değerlendirmenin bir parçası olarak lomber ponksiyon yapılmalı ve BOS kültürü gönderilmelidir. Bebeğe antibiyotik başlanmadan BOS örneği alınması kültüründe etken patojenin izole edilme şansını artırmaktadır (37-40).

Yenidoğanda idrar kültürü için örnek üriner kateterizasyon veya suprapubik mesane aspirasyonu ile alınmalıdır. Erken sepsiste idrar kültüründe bakterinin izole edilme olasılığı düşüktür ve idrar kültüründe üreme olması genellikle gerçek idrar yolu enfeksiyonundan çok bakteriyemi sonucunda patojenin mesaneye ulaştığını gösterir. Bu nedenle yaşamın ilk 72 saati içinde erken sepsis taramasının bir parçası olarak idrar kültürü

alınması önerilmemektedir. Geç sepsiste sepsisin nedeni idrar yolu enfeksiyonu olabilir, idrar kültüründe bakterinin izole edilme olasılığı daha fazladır. Bu nedenle geç sepsis taramasında rutin olarak idrar kültürü alınması önerilmektedir (6, 7, 20, 35).

Deri altı yumuşak dokuda apse, septik artrit gibi fokal bir enfeksiyon odağı varsa apse veya eklem sıvısı gibi örneklerden kültür alınması önerilmektedir. Pnömoni veya diğer nedenlerle mekanik ventilatörde izlenen yenidoğanlarda trakeal aspirasyon kültüründe bakteriyel üreme olduğunda enfeksiyon-kolonizasyon-kontaminasyon ayırımının yapılması g olduğundan entübe izlenen yenidoğanlarda sepsis taramasında rutin trakeal aspirasyon kültürü alınması önerilmemektedir (6, 7, 20, 35).

Yenidoğan sepsisi tanısında uygulanan spesifik olmayan tanı ve tarama testlerinin ideal olarak en yüksek (% 100) duyarlılığa ve negatif tahmin değerine sahip olması istenir. Diğer bir deyişle sepsis varsa test sonucu daima anormal olmalı, test sonucu normal ise kesinlikle sepsis olmamalıdır. Ancak laboratuvar testlerinden hiçbiri tek başına sepsis tanısını yeterli düzeyde doğrulayacak veya dışlayacak duyarlılık ve özgüllüğe sahip değildir. Bu nedenle birden fazla tarama testinin birlikte uygulandığı ve sonuçlarının birlikte değerlendirildiği sepsis tarama yöntemleri geliştirilmiştir. Çalışmalarda bazı tarama gruplarının negatif tahmin değerinin % 100'e yaklaştığı gösterilmiştir. Günümüzde kolay uygulanmaları ve ucuz olmaları nedeniyle tarama testleri arasında en yaygın kullanılanları lökosit sayı ve oranları ile C-reaktif protein (CRP)'dir (16, 20, 34 - 36).

Total lökosit sayısı, polimorfonükleer lökosit (PMN) ve lenfosit sayıları, mutlak nötrofil sayısı (ANS), immatür/total polimorfonükleer lökosit (İ/T) oranı (band, metamiyelosit ve miyelositlerin toplam sayısının, tüm polimorfonükleer lökosit, band, metamiyelosit ve miyelositlerin toplam sayısına oranı) en sık kullanılan tam kan sayımı değerleridir. Bu hematolojik parametreler bebeğin gebelik yaşı, kan örneğinin alınma zamanı, yeri ve enfeksiyon dışı perinatal faktörlere (maternal hipertansiyon, zor doğum, asfiksi, respiratuvar distres sendromu, intrakraniyal kanama, mekonyum aspirasyon sendromu, hemolitik hastalık gibi) bağlı olarak değişebilmektedir.

Bu hematolojik değerlerin yukarıda sayılan bazı maternal/neonatal faktörlerden etkilenebilmesi nedeniyle duyarlılıkları % 17 - 90, özgüllükleri % 31 - 100 arasında değişmektedir. Kültürde kanıtlanmış sepsisi olan bebeklerin yarısında lökosit sayıları normaldir. Yaşamın ilk 24 saatinde tam kan sayımı yapılması erken neonatal sepsis tanısına yardımcı olur. Yenidoğanlarda total beyaz hücre sayısının düşük (<5000/mm³) olması; mutlak (PMN sayısı <1000/mm³) veya göreceli (PMN sayısı <5000/mm³) nötropeni olması; veya İ/T oranının $\geq 0,3$ olması kanıtlanmış erken neonatal sepsis olasılığının yüksek olduğunu gösterir (20, 42). Hematolojik bulgular içinde immatür total oranı (İ/T) en duyarlı olanıdır, İ/T oranının 0.2'den fazla olmasının neonatal sepsis tanısında duyarlılığı %60 - 90, özgüllüğü % 50 ve negatif tahmin değeri (NTD) % 98 - 100'dür. İ/T oranı enfeksiyon dışı durumlardan daha az etkilendiğinden yenidoğan sepsisi tanısında toplam lökosit sayısına göre daha güvenilir bir belirteçtir. Sepsisi olmayan bebeklerde ilk 24 saatte İ/T oranının üst sınırı 0.16'dır. Çoğu yenidoğanda doğumdan sonraki ilk 60 saatte İ/T oranı 0.12'nin altındadır. Normalde toplam ve mutlak nötrofil sayısı ilk altı saatte hızla arttığından özellikle ilk dört saatte alınan kandan yapılan tam kan sayımı ve periferik yayma bulguları sepsis tanısında değerlidir. Sepsis belirti ve bulgularını gösteren yenidoğanların ancak üçte ikisinde başlangıçta anormal nötrofil sayıları bulunur, bu nedenle yenidoğan sepsisi tanısını doğrulamada nötrofil sayısı tek başına yeterli değildir. Maternal hipertansiyon, ciddi perinatal asfiksi, periventriküler veya intraventriküler kanama durumlarında nötropeni gözlenebilir (6, 7, 20, 34,41).

Yenidoğanlarda eritrosit sayısının göreceli olarak fazla olması, eritrosit sedimentasyon hızının (ESH) normal değerlerinin yaşamın ilk iki haftası içinde önemli ölçüde değişmesi, anemi gibi enflamasyon dışı faktörlerden etkilenmesi, ESH'deki artışın genellikle klinik bulgular ortaya çıktıktan 24 - 48 saat sonra görülmesi ve klinik düzelmeden uzun süre sonra ESH'nin normale dönmesi nedeniyle yenidoğan sepsisinin tanı ve izleminde ESH'nin değeri çok azdır (7, 20, 34,35).

Akut faz reaktanları enflamasyonda hepatositlerin sitokinler tarafından indüklenmesi ile karaciğerden sentezlenen proteinlerdir, enfeksiyon ve enflamasyonda serum düzeyleri artar (20, 36, 34, 35, 42 - 45).

C reaktif protein (CRP) yenidoğan sepsisi tanısında en yaygın kullanılan akut faz reaktanıdır. Karaciğerde yapılır, enflamasyon ve sepsis durumlarında kandaki miktarı artar. CRP düzeyi genellikle enfeksiyonun başlamasından 4 - 6 saat sonra artmaya başlar, 24 saat içinde yükselir, 2 - 3 gün içinde tepe yapar ve enflamasyon düzeline kadar yüksek kalır, yarı ömrü 19 saattir. Bu nedenle sepsisin erken tanısı için duyarlılığı düşüktür. Sağlıklı prematüre veya zamanında doğmuş olan bebeklerde normal düzeyi 0.2 - 0.5 mg/dL arasında, üst sınırı 1.0 mg/dL olarak tanımlanmıştır (46, 47). Yöntemleri farklı olmakla birlikte çalışmalarda CRP'nin duyarlılığının % 35 - 94, özgüllüğünün % 60 - 96 arasında olduğu bildirilmiştir (47). Ünitimizde yapılan ve 163 bebeğin dahil edildiği bir çalışmada CRP'nin sensitivitesi % 72.3 olarak bulundu (59). Son yıllarda yapılan çalışmalarda kullanılan kesim noktası değerlerine göre (1.2 - 6 mg/dL) serum CRP düzeyi artışının duyarlılığı % 84 - 96, NTD % 93 - 99 arasında bulunmuştur (48 - 50). Doğumdan hemen sonraki dönem dışında ardışık olarak CRP değerinin 1 mg/dL'den düşük olmasının negatif tahmin değeri % 99'dur. Ancak enflamasyona neden olan enfeksiyon dışı birçok durumda da düzeyi arttığından sepsise özgü bir test değildir. Maternal ateş, EMR, fetal distres, zor doğum, vakumla doğum, perinatal asfiksi, periventriküler/intraventriküler kanama, pnömotoraks, mekonyum aspirasyon pnömomisi gibi enfeksiyon dışı durumlarda da yükseldiğinden özellikle erken sepsiste duyarlılığı düşüktür. Bu nedenle CRP'nin yenidoğan sepsis tanısı için tek başına kullanılması önerilmemektedir. Ardışık olarak CRP düzeylerine bakılması neonatal bakteriyel enfeksiyon şüphesiyle antibiyotik tedavisi başlanan bebeklerde antibiyotik tedavisine yanıtı ve/veya enfeksiyonun relapsını gösterebildiğinden antibiyotik tedavisi sırasındaki izlem sürecinde yararlıdır. CRP düzeylerinde yükseklik olan bebeklerde antibiyotik tedavisine başlandıktan 24 - 48 saat sonra 1.0 mg/dL'nin altında bir azalma olursa bu

bebeklerde enfeksiyon olasılığının düşük olduğunu gösterir ve genellikle antibiyotik tedavisini sürdürmeye gerek kalmaz (33-35, 42-45, 48,51).

Prokalsitonin (PCT), kalsitoninin öncül hormonu olan bir peptiddir, monosit ve hepatositlerden yapılır. Enfeksiyonun başlamasından sonra iki saat içinde dolaşımdaki konsantrasyonu artmaya başlar. Üzerinde en çok çalışma yapılmış olan akut faz reaktanlarından biridir. PCT'nin avantajı serum düzeyinin CRP'ye göre daha hızlı artmasıdır. PCT bakteri endotoksini ile temastan dört saat sonra serumda artmaya başlar, altı - sekizinci saatlerde tepe yapar ve serum düzeyi en az 24 saat yüksek olarak kalır. Yenidoğanda kanıtlanmış veya klinik sepsiste çok yüksek serum PCT değerlerinin saptandığı ve bu düzeylerin kısa sürede azalmasının antibiyotik tedavisinin uygun olduğunun göstergesi olduğu bildirilmiştir. Enfeksiyon sırasında erken dönemde dolaşımdaki konsantrasyonunun artması nedeniyle erken tanıda CRP'den daha değerli bir enfeksiyon belirtecidir (52, 53). Bununla birlikte sağlıklı yenidoğanlarda yaşamın ilk iki gününde PCT düzeyinde fizyolojik olarak artış olması tanıda karışıklığa neden olabilmektedir (46, 53). Ayrıca enfeksiyon dışındaki bazı perinatal olaylarda (kafa içi kanama, perinatal asfiksi, maternal preeklampsi) PCT düzeyinde artış olabildiği gösterilmiştir (55). Bu nedenle yaşamın ilk günlerinde alınan PCT düzeyini yorumlarken yukarıda sayılanlar dikkate alınmalıdır. Erken ve geç neonatal sepsiste PCT'nin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif tahmin değerlerinin (PTD, NTD) oldukça yüksek olduğu (56), bazı çalışmalarda da bu değerlerin CRP, IL - 6 ve IL - 8'den daha yüksek olduğu gösterilmiştir (57, 58). Ünitimizde yapılan bir çalışmada PCT'nin sensitivitesi % 74.8 olarak bulundu (59). Uygun antibiyotik tedavisinin başlanması ile serum düzeyi hızla azalmaya başlar ve iki ile üç gün içinde normale döner (57, 58). Ünitimizde yapılan diğer bir çalışmada termlerde neonatal sepsisin erken tanısında, hastalığın şiddetinin tespitinde ve antibiyotik tedavisinin değerlendirilmesinde serum prokalsitonin düzeylerinin izleminin serum CRP düzeylerinin izlenmesine göre daha üstün olduğu tespit edilmiştir (49).

Serum amiloid A (SAA) son zamanlarda üzerinde çok çalışılan başka bir umut verici akut faz reaktanıdır ve yenidoğan sepsisi tanısında yararlı

olabileceği bildirilmiştir. Doku zedelenmesi ve enfeksiyona yanıt olarak hepatositler, düz kas hücreleri, endotel hücreleri ve monositlerden salınır. Enflamasyon sürecinde birçok rolü vardır ve nötrofillerden IL - 8 salınımını uyarır. Ünitimizde yapılan çalışmada SAA'nın sensitivitesi % 76.4 olarak bulundu (59).Yapılan diğer çalışmalarda enfeksiyonun başlangıcından sonraki ilk 24 saat içinde SAA'nın duyarlılığının, CRP ve IL - 6'dan daha fazla, özgüllüğünün hafif daha düşük (sırasıyla sıfırıncı saatte % 95, % 32, % 78, sekizinci saatte % 100, % 53, % 47, 24. saatte % 97, % 84, % 19) olduğu bulunmuştur. Bu nedenle SAA enfeksiyonun başlangıcından sonraki ilk 24 saatlik sürede CRP ve IL - 6'dan daha güvenilir bir belirteçtir (36, 42-44).

Plazma fibrinojen düzeyi enfeksiyonda genellikle artar. Ancak, RDS, dissemine intravasküler koagülasyon (DİK) ve kan değişimi gibi durumlarda enfeksiyon olsa bile fibrinojen düşük bulunabilir. Fibrinojen yüksekliği ESH'ıda etkiler. Enfekte ve normal yenidoğanlardaki değerlerin sıklıkla birbirine yakın bulunması nedeniyle fibrinojenin sepsis tanısındaki yeri sınırlıdır (133).

Haptoglobin serumdaki serbest hemoglobini bağlayan ve retikuloendotelial sisteme taşıyan bir proteindir. Sepsisli bebeklerde haptoglobin yüksekliğine dair bilgiler bulunmasına rağmen sonuçlar tam güvenilir olmadığından yenidoğan sepsisinin erken tanısında kullanılması önerilmez (134).

Alfa - 1 asit glikoprotein olarak da bilinen orosomukoid, lenfosit, monosit, nötrofiller ve hepatositler tarafından sentezlenir ve lökositlerin membran proteinlerinin büyük kısmını oluşturur. Fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Preterm bebeklerin kordon kanında term bebeklerinkine nazaran daha düşük olmasına rağmen doğumdan sonra preterm bebeklerde daha hızlı yükselir. Yanlış pozitif ve negatif sonuçların fazla olmasından dolayı sepsis tanısındaki değeri sınırlıdır. Ancak tedavinin etkinliğinin izlenmesinde faydalı olabilir. Fakat yarı ömrünün uzun olması nedeniyle tedavi izlemindeki yeri de tartışmalıdır ve bu yüzden klinik kullanıma uygun değildir (135).

Fibronektin yüksek molekül ağırlıklı bir glikoproteindir. Karaciğer ve endotelial hücrelerde sentezlenir. Hücre yüzeyi, ekstraselüler matriks, plazma ve diğer vücut sıvılarında bulunur. Mikrovasküler bütünlüğün korunmasında, hemostaz ve yara iyileşmesinde görev yapar. Embriyogenezde hücre göçü, çoğalması ve farklılaşmasında etkilidir. Nötrofil ve makrofajların fagositoz gücünü artırarak ve non spesifik bir opsonin gibi fonksiyon görerek immun cevaba yardımcı olur. Plazma fibronektin düzeyi yaşa göre değişir. Gestasyon yaşı arttıkça fetusteki fibronektin düzeyi de artar ve sağlıklı term bebekte erişkin değerlerinin yarısına, sağlıklı preterm bebeklerde ise erişkin değerlerinin üçte birine ulaşır. Doğumdan sonra konsantrasyonu artar ve bebek 2 aylık olduğunda erişkin seviyeye ulaşır. Plazma fibronektin düzeyi asfiksi, RDS ve/veya bronkopulmoner displazi olan bebekler dışında enfekte bebeklerde de azalır. Sepsisli yenidoğanlarda inflamatuvar ürünlerin retikuloendotelial sistem tarafından temizlenmesine bağlı olarak fibronektin düzeyleri düşer. Yenidoğan sepsisinin erken bir endikatörüdür (60). Enfeksiyon düzeldikçe fibronektin hızlı bir şekilde artar ve 2 - 5 günde normal değere döner. Özellikle çok düşük doğum tartılı yenidoğanlarda tanı değeri daha yüksektir (61).

C3d C3'ün ana metabolitidir. Antijen-antikor kompleksinin oluşması veya bakteriyel endotoksinlerin alterne kompleman yolunu aktive etmesi durumunda serumda artar. Yenidoğan sepsisi tanısında faydalıdır (61, 62).

İntrauterin enfeksiyonlarda kordon kanı Ig M düzeyi artar. Postnatal enfeksiyonlarda da Ig M artması beklenir. Fakat sepsisli bebeklerin ancak yarısında Ig M artışı saptanır. Diğer yandan viral enfeksiyonlar ve yüzeysel bakteriyel enfeksiyonlarda da Ig M artışı saptanabilir. Anneden fetuse Ig M plasenta yolu ile geçmediği için, normalde seviyesi yenidoğanda düşüktür. 20 mg/dl üstünde oluşu sepsis tanısında anlam ifade eder. Ancak sensitivite ve spesifitesinin düşük olmasından dolayı yenidoğan sepsisi tanısında pek kullanılmaz (58, 63).

Enflamatuvar sitokinler ve kemokinler [IL - 1 β , IL - 6, IL - 10, IFN - γ , TNF - α , IL - 8, RANTES (regulated upon activation normal T cells expressed and secreted), MIG (monokine induced by interferon- γ), MCP - 1 (monocyte

chemoattractant protein - 1), GRO- α (growth-related oncogene - α), IP - 10 (interferon- γ -inducible protein - 10) karmaşık enflamatuvar yollarda görev alırlar ve vücudun enfeksiyona verdiği yanıtı düzenlerler. Bu maddelerin düzeyleri veya oranları bize enflamasyon sürecinin durumuna göre tanıda veya prognozda yararlı bilgiler sunar ve sepsisinin erken tanısında kullanılabilirler. Ancak sitokinlerin yarı ömrünün kısa olması, enfeksiyon sürerken serum düzeylerinin normale gelebilmesi yalancı negatifliğe neden olabilir (36, 42 - 45).

IL - 6 enfeksiyonda serumda çok erken ortaya çıkan bir belirteçtir ve üzerinde en çok çalışılmış sitokinlerden biridir. Hem T hem B hücreler tarafından yapılır. Vücudun enfeksiyona verdiği yanıtın düzenlenmesinde pek çok rolü vardır. Bakteriyel ürünlerle karşılaştıktan sonra IL - 6 düzeyinde hızlı ve ciddi bir artış olur. IL - 6, CRP gibi akut faz reaktanlarını yapması için hepatositleri uyarır (36, 42 - 45). Bu nedenle enfeksiyonun erken evresinde CRP'den daha duyarlıdır. Enfeksiyonun erken döneminde IL - 6'nın duyarlılığı % 89 iken, CRP'nin duyarlılığı % 60'tır. Daha da önemlisi IL - 6'nın negatif tahmin değeri (% 91) CRP'den (% 75) daha yüksektir (58, 64 - 66). IL - 6'nın yarı ömrü kısadır, enfeksiyon tedavisine başlanmasından sonra 24 saatte enfeksiyon sürse bile dolaşımdaki konsantrasyonu saptanamayacak kadar azalır (57, 65, 67). Enfeksiyonun başlangıcından sonra 24. saatte CRP'nin duyarlılığı % 82, 48. saatte % 84 iken, IL - 6'nın duyarlılığı sırasıyla % 67 ve % 58'e kadar azalır (57). IL - 6 düzeyine bakmak için en uygun kan alma zamanı dar bir aralıktadır. Bu kısıtlılıklar nedeniyle IL - 6'nın tanısal değerini artırmak için enfeksiyonun daha geç dönemine duyarlı olan başka belirteçler (örneğin CRP, TNF - α) ile birlikte kullanılması önerilmektedir (62, 66).

Antienflamatuvar sitokinlerden olan IL - 10 ve TGF - β (transforming growth factor β) enfeksiyon durumunda aşırı enflamatuvar yanıt verilmesinin önlenmesinde görevlidirler (68). ÇDDA yenidoğanların alındığı bir çalışmada IL - 10'nun TNF - α 'ya oranındaki artışın şiddetli enfeksiyon ile ilişkili olduğu, prognoz ile ilişkisinin zayıf olduğu gösterilmiştir (69). Proenflamatuvar ve antienflamatuvar yanıtın yoğun olması enfeksiyonun şiddetli olduğunu

gösterir ve hastalığın başlangıcında yaygın damar içi pıhtılaşma bozukluğu gelişeceğinin habercisi olabilir (68).

Kemokinlerle ilgili çalışmaların içinde IL - 8 üzerinde en çok çalışma yapılan kemokindir. IL - 8 bir grup kemoatraktant sitokinden biridir, lökosit migrasyon ve aktivasyonunu düzenler. IL - 8 de IL - 6'ya benzer şekilde enfeksiyonun başlamasından sonra bir-üç saat içinde artar ve yarı ömrü dört saatten kısadır (43 - 45). Enfeksiyonun erken evresinde IL - 8'nin belirteç olarak kullanıldığı birçok çalışma vardır (70 - 74). Perinatal enfeksiyonlarda IL - 8 düzeyinin yaşamın birinci gününde ciddi oranda yükseldiği, buna karşın yaşamın dördüncü gününde bu artışın izlenmediği belirlenmiştir (75). Bakteriyel erken neonatal enfeksiyonlarda ilk altı saatte IL - 8'in duyarlılığı (% 71) CRP'den (% 14) daha yüksektir (74). IL - 8 hızla lökositlerdeki reseptörlerine bağlandığı için dolaşımdaki tüm IL - 8 miktarını ölçebilen özel yöntemler geliştirilmiştir (72, 73). Bu yöntemler kullanıldığında klinik olarak enfeksiyon bulgularının başlamasından altı saat sonra IL - 8 düzeyi alındığında duyarlılık (% 71) ve negatif tahmin değerinin (% 97) arttığı (sırasıyla % 89, % 99) gösterilmiştir (74).

IL - 8'in dışında diğer kemokinler (IP - 10, MIG, MCP - 1, RANTES, GRO - α) de erken ve geç neonatal enfeksiyonlarda belirteç olarak çalışılmışlardır (38, 40, 76). Bunların içinde özellikle IP - 10 ve RANTES'in neonatal enfeksiyon belirteci olarak kullanımı umut verici görünmekle birlikte araştırmalar sürmektedir (43 - 45, 75).

Lipopolisakkarit bağlayıcı protein (LBP), CRP ve SAA'ya benzer bir akut faz reaktanıdır ve esas olarak karaciğerde yapılır. Bakterinin lipopolisakkaritine bağlanır ve oluşan bu yapı makrofajlardaki reseptörlerle etkileşerek pro-enflamatuar yanıtı başlatır. LBP enfeksiyonun erken döneminde artan IL - 6 ile daha geç dönemde artan CRP arasındaki tanısal boşluğu doldurabilir (43 - 45). LBP'nin erken ve geç neonatal sepsiste enfeksiyonun başlangıcında alındığında duyarlılık (% 97) ve negatif tahmin değerinin (% 92) PCT (% 55, % 91), CRP (% 70, % 94) ve IL - 6'ya (% 55, % 91) göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (77, 78). Ayrıca fizyolojik,

maternal ve obstetrik faktörlerden etkilenmemesi nedeniyle PCT, CRP ve IL - 6'dan daha üstün bir belirteç olduğu düşünülmektedir (43 - 45).

Hücre zarındaki antijenlerin birçoğu lökositlerin hücre zarlarının üzerinde sunulmaktadır. Akım sitometrideki gelişmeler ile yüzeydeki antijenler çok az miktardaki kanda doğru şekilde ölçülebilmektedir. Dolaşımdaki sitokin ve akut faz reaktanlarının konsantrasyonlarından çok lökositlerin yüzeylerindeki antijen sunumu paterninin vücudun enfeksiyona gösterdiği bağışıklık yanıtını daha doğru yansıttığı düşünülmektedir (43 - 45, 79 - 81). Monosit ve makrofajların yüzeyinde bulunan CD64 reseptörleri, IgG yapısındaki antikorların Fc bölümlerine yüksek ilgi ile bağlanır. Bu reseptörler genellikle nötrofillerin yüzeyinde düşük yoğunlukta dırlar, ancak enfeksiyon varlığında belirgin oranda artarlar (80, 81). Bu nedenle nötrofillerin yüzeyindeki CD64 yoğunluğu yenidoğanlarda erken dönemde enfeksiyonu belirlemede kullanılabilir. Bir çalışmada erken neonatal sepsisin erken döneminde nötrofil CD64 yoğunluğunun duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek (sırasıyla sıfırncı saatte % 79, % 89, 24. saatte % 96, % 81) olması nedeniyle sepsisin erken tanısında umut verici bir belirteç olabileceği söylenmiştir. Ayrıca CRP veya IL - 6 ile birlikte kullanıldığında duyarlılık ve özgüllüğün daha da arttığı (sırasıyla % 95 - 100 ve % 90) belirlenmiştir (80). Başka bir çalışmada ÇDDA bebeklerde geç yenidoğan bakteriyel sepsis ve nekrotizan enterokolitin başlamasından bir gün sonra nötrofil, CD11b ve CD64 ile lenfosit CD25 ve CD45RO düzeylerinde duyarlı ve özgül bir artış olduğu gösterilmiş; sıfırncı, 24. ve 48. saatlerde nötrofillerdeki CD64 artışının duyarlılık ve özgüllüğünün sırasıyla % 95 ve % 88, % 97 ve % 90, % 86 ve % 86 (diğer lökosit yüzey belirteçlerinden daha yüksek) olduğu bulunmuştur (81). Enfeksiyon başladığında nötrofil CD64 yoğunluğunda hızlı bir artış olmasına karşın, diğer erken dönem belirteçleri olan IL - 6 ve IL - 8'in tersine bu artışın 24 saatten daha uzun süreliğine korunması bize daha geniş bir tanı zamanı verir (43 - 45).

Sepsis tanısının doğru ve erken konulabilmesi için lökosit yüzey antijenlerinin (CD11b, CD64, CD32, CD16, CD69 gibi) belirlenmesi, polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile patojenlerin tanımlanması giderek

önem kazanmaktadır. Bununla birlikte sitokinler, hücre yüzey antijenleri ve moleküler belirleyicileri ölçmek genellikle pahalıdır, özel cihaz ve eğitimli personel gerektirir (34, 43-45).

Yenidoğan sepsisinin erken ve kesin tanısı için rutin laboratuvar incelemeleri ile yeni geliştirilen yöntemler birleştirilerek bazı tarama panelleri geliştirilmiştir. Tarama panellerinde standart incelemelere kan, BOS, idrar kültürleri, akciğer filmi ek olarak lökosit sayı ve oranları (total beyaz hücre, polimorfonükleer lökosit ve lenfosit sayıları, mutlak nötrofil sayısı, immatür nötrofil sayısı, İ/T oranı), trombosit sayısı, akut faz reaktanları ve sitokin düzeyleri bulunabilir. Sepsis tanısı için en iyi kombinasyonun semptomların başlamasından bir iki gün önce IL - 6 ve İnterlökin - 1 reseptör antagonisti (IL - 1ra), sıfırıncı günde IL - 6 (veya IL - 1ra, IL - 8, CD11b, CD64, G - CSF, TNF - α), CRP, PCT ve hematolojik göstergeler, izleyen günlerde tedaviye yanıtı belirlemek için CRP, hematolojik göstergeler ve PCT olduğu bildirilmiştir. Bu kadar çok sayıda laboratuvar yönteminin bir arada kullanılması pahalı ve uygulaması zor olduğu için yenidoğan sepsisi tanısı için yalnızca lökosit göstergeleri ve CRP'nin birlikte kullanılmasını öneren merkezler de vardır. Klinik belirti ve bulguları ile sepsis düşünülen bir yenidoğanda antibiyotik tedavisine başlamadan önce mutlaka sepsis taraması (tam kan sayımı, periferik yayma, CRP ve/veya PCT, kan kültürü, akciğer filmi, gerekiyorsa diğer laboratuvar incelemeleri ve kültürler) yapılmalıdır (6, 7, 34, 36).

Sepsis tanısının zorluğu nedeni ile klinik bulgu ve laboratuvar değerlerinin kombine edildiği bazı skorlama yöntemleri geliştirilmiştir. Töllner'in sepsis skorlamasında toplam skorun 5'in altında olması normal, 5 - 10 arası şüpheli, 10 puanın üstü ise kesin sepsis olarak ele alınır (82). EMR'li anne bebeklerinde EMR skorlaması yapılır, toplam puan 3 veya üzerinde ise erken sepsis tedavisi başlanır (83, 84).

Bakteriyel enfeksiyonlarda etken olan mikroorganizmanın kesin olarak belirlenmesi mikrobiyolojik kültürlerde bakterinin üretilmesi ile yapılabilmektedir. Ancak bakterinin üremesi ve üreyen bakterinin tiplendirilmesi için en az 48 - 72 saatlik bir süre gerekmektedir. Hastaya

antibiyotik başlarken etken bakterinin bilinmesi etkili tedavinin başlanmasını sağlar, tedavi başarısını artırır ve bebeğin gereksiz ilaç almasını önler. Bu nedenle enfeksiyon tanısında bazı moleküler yöntemler geliştirilmiştir. Bunların başlıcaları etken bakteriler için FISH (florescence in situ hybridisation), PCR (polymerase chain reaction) ve kemokinlere ait mRNA'ların saptanması yöntemleridir (18, 34, 43, 85 - 88). FISH yöntemiyle bakteriler için 18 saatte, maya mantarları için 42 saatte enfeksiyon etkenin belirlenebildiği gösterilmiştir (86).

Son yıllarda erken ve geç sepsis tanısı için PCR yöntemi ile bakteriyel 16S ribozomal ribonükleik asit (rRNA) gen tayininin yararlı olabileceği bildirilmektedir (20, 44, 89). PCR'nin kan kültürüne göre avantajları hızlı (birkaç saat içinde) sonuç elde edilebilmesi ve 0.2 - 0.3 ml kadar az kan volümü ile tanı konulabilmesidir (44).

PCR moleküler genetikte en sık kullanılan metotlardan birisidir. Bu yöntem kısaca, kalıp DNA üzerinde istenilen bir bölgenin, canlı dışında enzimatik olarak çoğaltılması olarak tanımlanabilir. PCR, dizisi bilinen bir DNA bölgesinin in vitro olarak çoğaltılmasını sağlayan ve DNA molekülünün milyonlarca, hatta milyarlarca kopyasını kısa zamanda yapmaya olanak sağlayan bir tekniktir. İlk olarak Kary Mullis bu tekniğe bugünkü ismini vermiş ve uygulamaya koymuştur ve bu fikri ile 1993 yılında Nobel Kimya Ödülü'nü kazanmıştır (92).

PCR nükleik asit dizilerinin canlı dışında, kolay bulunan bir ekipman ile, kısa bir süre içerisinde, yüksek miktarda çoğaltılmasına olanak tanır. DNA çoğaltılması için kullanılan klonlamaya göre çok daha hızlı, basit ve esnektir (93). Isıya dayanıklı DNA polimeraz enziminin kullanılması, PCR için otomasyonun kolayca uygulanmasını sağlamıştır (94).

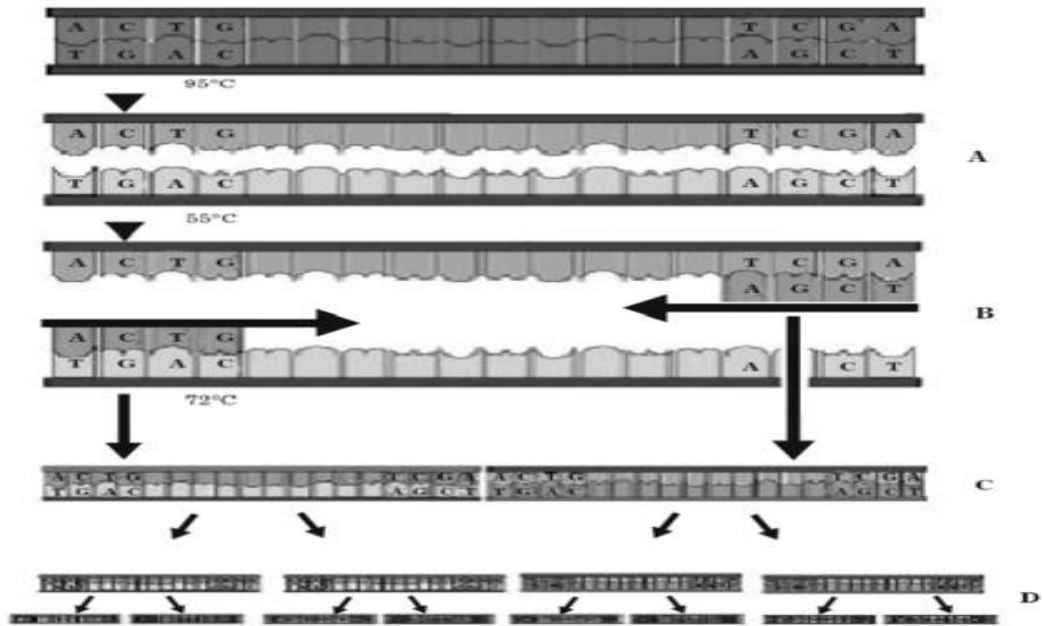
PCR basitçe üç olayın bir döngü halinde tekrarlanmasından oluşur (Şekil - 1) (95):

1-Denatürasyon (Denaturation) (DNA'nın tek zincire ayrılması): Isı ile sağlanır. Artan ısı DNA'nın iki zincirini bir arada tutan, moleküller arası hidrojen bağlarını kırar ve iki zincir birbirinden ayrılır.

2-Primer bağlanması (Annealing): DNA polimerazın polimerizasyon yapabilmesi için açık 3' OH grubu olması gerekmektedir. Bu da primer denilen sentetik DNA molekülleri tarafından sağlanır. Primerler aynı zamanda çoğaltılacak yeri belirleme görevinde de bulunurlar. Bir PCR için, farklı zincirlerde olacak şekilde 2 adet primer tasarlanır.

3-Uzatma (Extension): DNA polimerazın polimerizasyonu gerçekleştirdiği aşamadır. DNA polimeraz, solüsyonda bulunan dATP, dTTP, dCTP veya dGTP moleküllerinden diziyeye gelmesi gerekeni primerden başlamak üzere bağlar.

Bu üç aşama 25 - 45 kez tekrarlanır. Her döngü sonunda teorik olarak ampikon miktarı iki kat artsa da, pratikte PCR'ın verimliliğine göre bu oran daha düşüktür. Ancak yine de logaritmik (üssel) bir artış görülür. Polimerizasyon ile DNA miktarındaki artış, primer dizilerinin arasında gerçekleşir. Ortaya çıkan primerler ile sınırlandırılmış küçük DNA parçalarına ise ampikon denir.



Şekil - 1: PCR'ın şekilsel gösterimi (92). **(A)** Sıcaklığı arttırılan DNA'nın iki zinciri birbirinden ayrılır. **(B)** Sıcaklığın düşmesi ile primerlerin bağlanması ve uzatma gerçekleşir. **(C)** Yeni oluşan iki zincir. **(D)** Bu artış üssel olarak devam eder.

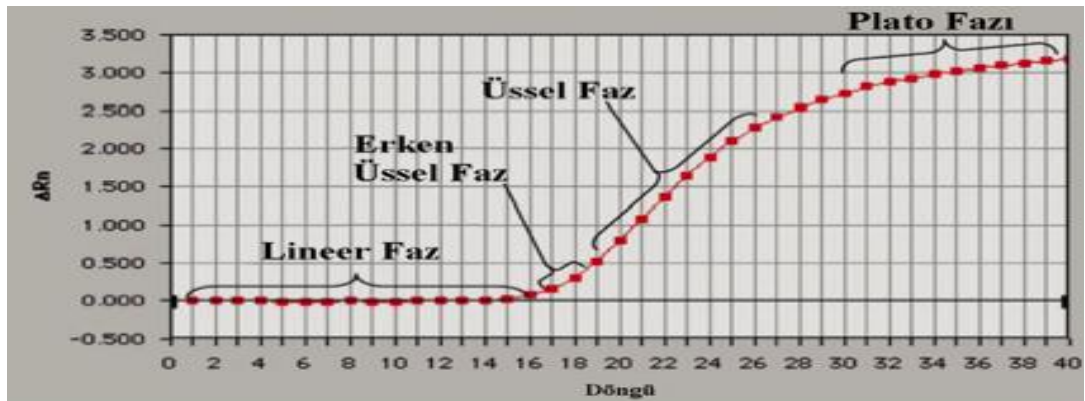
PCR ile genellikle 10 kilo baz (kb) uzunluğa kadar DNA bölgeleri çoğaltılabilmektedir, ancak bazı metotlarla bu uzunluk 40 kb'a kadar ulaşabilmektedir. PCR dört ana fazdan oluşur (Şekil - 2):

1-Linear Faz: Bu PCR'ın başlangıç aşamasıdır ve yaklaşık 10 - 15 döngü sürer. Bu bölümde her ne kadar reaksiyon çok hızlı bir şekilde ilerlese de, çoğalma miktarı tespit sınırlarının altında olduğundan herhangi bir artış gözlenmez.

2-Erken Üssel Faz: Bu bölüm artış miktarının tespit sınırları içine girdiği bölümdür. Artış miktarı belirli bir eşik seviyeye ulaşır. Bu seviye ulaşılan döngüye Ct (Threshold Cycle-Eşik Döngü) (ABI Prism® literature - Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) veya CP (Crossing Point-Kesişme Noktası) (LightCycler® literature - Roche Applied Science, Indianapolis, IN, USA) denir. Bu değer reaksiyona eklenen kalıp kopya sayısının hesaplanmasında kullanıldığı için önemlidir (96).

3-Üssel Faz: Bu bölümde reaksiyon içindeki DNA miktarı hızla artar.

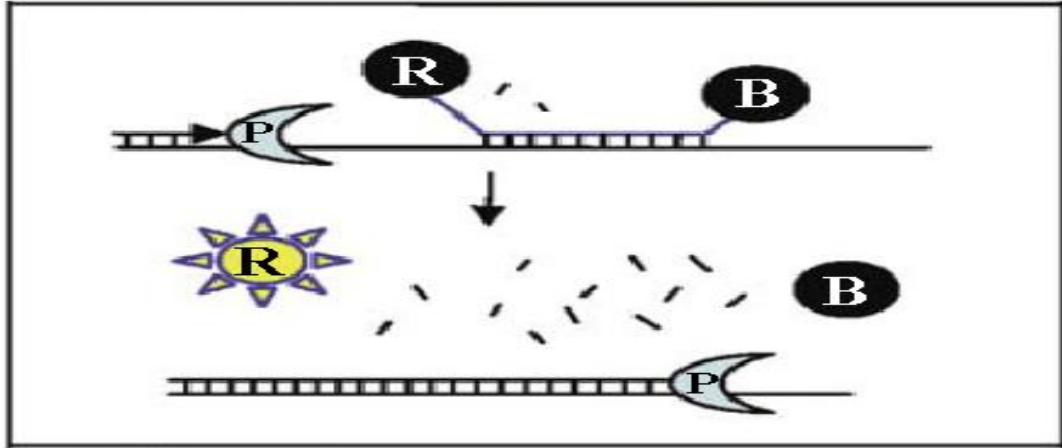
4-Plato Fazı: Bu bölümde, üssel bölümdeki artış miktarı azalır ve reaksiyon durmaya noktasına yaklaşır (96). Bunun sebebi reaksiyon reaktiflerin azalması ve daha da önemlisi artan kalıp yoğunluğu sonucunda primer-kalıp bağlanması yerine kalıp-kalıp bağlanmasının artmasıdır (94).



Şekil - 2: PCR'ın fazları (94).

PCR temelli tekniklerden birisi Eş Zamanlı PCR'dır (Real-Time PCR). Eş zamanlı PCR yaklaşımlarında floresan boyalar veya floresan işaretli kısa DNA parçaları (oligo) kullanılmak sureti ile solüsyon içerisindeki kalıp DNA'nın tespiti ve miktar tayini yapılabilmektedir. Higuchi ve ark. 1992 ve

1993 yılında yapmış olduğu çalışmalarda, çift zincir floresan DNA boyası ve video kamera kullanarak, PCR'ı eş zamanlı olarak görüntülediklerini bildirdiler. Böylece örnekleri nicel PCR'da olduğu gibi başka bir DNA ile karıştırmadan, DNA'nın hassas ve büyük dinamik bir aralıkta miktar tayininin mümkün olduğunu gösterdiler (97, 98).



Şekil - 3: Hidroliz probları (96). **R:** Raportör, **B:** Baskılayıcı, **P:** DNA Polimeraz.

Hidroliz probları, PCR'ın gerçekleşeceği kalıp üzerinde, primerlerin arasındaki bir bölgeye tümleyici olan, bir ucunda raportör (reporter), diğer ucunda baskılayıcı (quencher) olan tek zincir DNA molekülüdür. Molekül sağlam halde iken baskılayıcı, raportörden gelen ışığı emdiği için, floresan bir ışığa gerçekleşmez. Ancak PCR sırasında Taq polimerazın 5' -> 3' hidroliz özelliğinden dolayı, prob hidrolize olur ve raportör ve baskılayıcı birbirinden ayrılır. Bu ayrılma sonucunda baskılayıcı, raportörün yaydığı ışığı artık ememez ve solüsyon floresan özellik kazanır (Şekil - 3). PCR sırasında her döngüde daha fazla prob, üssel olarak artan amplikon sayısına göre logaritmik olarak hidrolize olacağından, döngü sayısı arttıkça floresan ışığa buna bağlı olarak artar (99). Hidroliz probları pahalı olmamak ile birlikte, düşük geri plan sinyaline ve daha geniş dinamik aralığa sahiptirler (96).

Yenidoğan sepsisinin tanısındaki bu zorluğa, moleküler genetik tekniklerin çözüm getireceği beklenmektedir. Yapılan bir çalışmada, GBS genomuna özgü *cfb* geni hedef alınarak tanıda % 100 spesifite ve % 100 sensitivite sağlanabilmiştir. Bu testte bakteriler, 100 kopya alt sınırına kadar kolaylıkla tespit edilebilmiştir (101).

PCR analizi ile ve 16S rRNA geni hedef alınarak, yüksek sensitiviteli geniş kapsamlı bir tanı metodu oluşturmak, klinik laboratuvar uygulamalarında zor bir olaydır. Çünkü 16S rRNA bölgesi yüksek miktarda korunmuşluğa sahip olduğundan, reaksiyonda kullanılan reaktifler içinde bulunan, az miktarda kalıntı bakteriyel DNA, pozitif sonuca sebebiyet verebilir (101). Bu kalıntı DNA, özellikle bakterilerden izole edilen ve PCR reaktiflerinden olan *Taq* polimerazdan kaynaklanabilmektedir (102). Bu sebeple klasik PCR ile elde edilen tespit sınırının 10^3 - 10^4 kopya/ml civarında olduğu belirtilirken, eş zamanlı PCR ile 5 - 50 kopya/ml tespit sınırına sahip olan teknikler geliştirilebileceği bildirilmiştir (101).

PCR reaksiyonu içerisinde bulunan kontamine bakteriyel DNA'yı azaltmak/ yok etmek için metotlar geliştirilmiştir. Bunlardan bir kısmı, daha önceki reaksiyonlardan bulaşabilecek ampikonları elimine etmek amaçlıdır. Bunlar arasında 8 - metoksipsoralen ve UV ışık kullanımı gösterilebilir. Bir diğeri de PCR içerisinde dTTP yerine dUTP kullanıp, reaksiyondan önce reaksiyon karışımını urasil - N - glikozilaz (UNG) ile inkübe etmektir; UNG çift zincir DNA'yı urasil nükleotidi olan yerden kestiği için, daha önceki reaksiyonlardan kaynaklanabilecek kontaminasyonları gidermede etkilidir. Ancak bu metotların hiçbiri, özellikle düşük kopya sayılı bir tespit amaçlandığında tek başına etkili olamamaktadır, çünkü *Taq* polimeraz kaynaklı bakteriyel genom kontaminasyonunu hedef almamaktadır. Bakteriyel genom kontaminasyonunu da hedef alan diğer bir metot olan PCR karışımının ultrafiltrasyonu ise, düşük kopya sayısı için çok etkili değildir (102).

16S rRNA geni, yaklaşık 1500 baz uzunluğunda, 23S ve 5S rRNA genlerini de içeren rRNA operonu içinde yer alan bakteriyel bir gendir. Çok popüler olan bu gen için, sadece GenBank® veri tabanına 33 binden fazla dizi girilmiştir. Popülaritesinin bu kadar yüksek olmasının sebebi, bakteriler arasında yüksek korunmuşluk oranına sahip olması ve aynı zamanda kolayca dizilebilecek bir uzunlukta olmasıdır. Bu sebeple bakterilerin tanımlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır; korunmuş bölgelerden

yapılan PCR ile çoğaltılan bölge içindeki korunmamış bölgelerden faydalanılarak bakteriler filogenetik olarak tanımlanabilmektedir (103).

16S rRNA gen analizi, klinik örnekler içinde bulunan bakterilerin tanımlanması için de kullanılabilir. Bu genin bakteri genomundaki kopya sayısının 10'dan fazla olabilmesi, özellikle düşük bakteri yoğunluğuna sahip olabilen klinik örneklerdeki bakteriyel kontaminasyonun teşhisini mümkün hale getirmektedir. 1992 senesinde, hayvanlardan insanlara geçerek enfeksiyona yol açan *Yersinia enterocolitica*, geliştirilen bir metotla kırmızı kan hücreleri içinde 5000 bakteri/ ml bir hassasiyet ile tespit edilebilmiştir. Daha sonraları 16S rDNA hedef alınarak aynı bakteri için hassasiyet, eş zamanlı PCR ile 30 CFU/ ml'ye kadar indirilebilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise 5 ayrı bakteri türünün teşhisini hedefleyen, eş zamanlı çoklu PCR metodu ile, enfeksiyon 12 - 16 bakteri/ ml hassasiyette tespit edilebilmiştir (102).

16S rRNA'nın bu avantajlarına rağmen, bakterileri tanımlamada dikkat edilmesi gereken durumlar olabilir; *Riemerella anatipestifer*'de olduğu gibi tür içinde heterojenite olabilir veya *Mycoplasma bovis*/ *Mycoplasma agalactiae*'de veya *Bacillus anthracis*/ *Bacillus cereus*/ *Bacillus thuringiensis*'te olduğu gibi, yakın ama farklı türlerde görülebilen yüksek benzerlik, tanımlamalarda hatalara yol açabilir (103).

Yenidoğan sepsisi tedavisinde kullanılacak antibiyotikler, bebeğin belirti ve bulgularının başladığı zaman, enfeksiyon etkeninin kazanıldığı ortam (doğum kanalı, hastane veya toplum), varsa enfeksiyon odağı, etken olma olasılığı fazla olan patojenler ve bunların antibiyotik duyarlılıkları dikkate alınarak seçilmelidir. Ayırıcı tanıda bakteriler dışındaki enfeksiyon etkenleri de göz önünde bulundurulmalı ve bunların sepsisten sorumlu olabileceklerini düşündüren öykü ve klinik bulgular varsa antibiyotik tedavisine ek olarak uygun antifungal veya antiviral tedavi başlanmalıdır. Kültür sonucunda etken mikroorganizma saptandığında antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre gerekiyorsa antibiyotik tedavisi yeniden düzenlenmelidir. Antibiyotik tedavisine yanıt bebeğin klinik durumu ve laboratuvar incelemeleri ile izlenmelidir (6, 7, 19, 20).

Erken sepsisin ampirik tedavisinde esas olarak GBS, *E. coli* ve diğer gram negatif enterik basiller ve *L. monositogenes*'e etkili olması gereken bir antibiyotik kombinasyonu uygulanmalıdır. Erken sepsis için ampirik tedaviye ampisilin ve bir aminoglikozit (gentamisin veya amikasin) ile başlanmalıdır. Gram negatif enterik bakterilerin neden olduğu sepsiste kültür sonuçları dikkate alınarak ampisilin bir aminoglikozit veya üçüncü kuşak bir sefalosporin (sefotaksim veya seftazidim) ile birlikte kullanılmalıdır. Kanıtlanmış veya klinik erken sepsiste ampisilin ve aminoglikozit kombinasyonu ile tedavi süresi yedi ile on gün olmalıdır. Klinik bulguları ile sepsis düşünülerek antibiyotik tedavisine başlanan bir bebekte kan kültüründe bakteri üremesi olmaması sepsis olmadığı anlamına gelmediğinden önerilen sürede tedavi verilmelidir. Tedaviye başladıktan sonraki 24 - 48 saat içinde bebeğin belirti ve bulgularının düzelmesi, 48 - 72 saat içinde de lökosit sayısı, İ/T oranı ve CRP düzeylerinin normal aralıklara gelmesi tedaviye uygun yanıtın alındığını gösterir (6, 7, 19, 20).

Toplum kaynaklı ve belirli bir enfeksiyon odakları olmayan geç sepsisli bebekler için de ampisilin ve aminoglikozitten oluşan tedavi uygundur. Bu bebekler için önerilen tedavi süresi de yedi ile on gündür. Hastanede yatan bebeklerde gelişen geç sepsis genellikle *koagülaz negatif stafilokoklar*, çoklu antibiyotik direncine sahip bazı *Enterobacteriaceae türleri*, *Pseudomonas türleri*, *Enterokoklar*, *S. aureus* ve *Candida türleri* (özellikle *Candida albicans*) ile gelişir. Hemen hemen tüm *stafilokoklar* penisilinaz ürettiklerinden penisilin ve ampisiline dirençli oldukları için bunların yerine antistafilokokal etkinliği olan bir antibiyotik tercih edilmelidir. Etkenin hastaneden kazanıldığı geç sepsiste tedaviye vankomisin ve bir aminoglikozit (gentamisin veya amikasin) veya vankomisin ile birlikte seftazidim başlanmalı, tedavi süresi 10 - 14 gün olmalıdır. *Pseudomonas* için bir aminoglikozit ile birlikte piperasilin, tikarsilin veya seftazidim; *Enterokoklar* için bir aminoglikozit ile birlikte ampisilin veya piperasilin kullanılmalıdır. Anaerob enfeksiyonlarda klindamisin, piperasilin veya metronizadol tercih edilmelidir. Çoklu ilaç direncine sahip gram negatif bakteriler ile gelişen enfeksiyonlarda meropenem, imipenem, sefepim veya siprofloksasin

kullanılması gerekebilir. Mantar sepsisi açısından riskli (prematüre, çok düşük doğum ağırlıklı bebek, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, invaziv işlemler, parenteral beslenme) olan yenidoğanlarda tedaviye antifungal bir ilaç (flukonazol, amfoterisin B) eklenmelidir. Geç sepsiste de tedaviye yanıt bebeğin klinik bulguları ile izlenmelidir (6, 7, 19, 20).

Yenidoğanlarda bakteriyel menenjitin en sık görülen etkeni GBS'dir, bunu *E. coli* izler. Diğer gram negatif enterik basiller (*Klebsiella*, *Enterobakter* ve *Serratia türleri*), *L. monositogenes*, *Enterokoklar* ve *Pseudomonas* da yenidoğan döneminde önemli menenjit etkenleri arasında yer alır. *H. influenza*, *S. pneumoniae*, koagülaz pozitif ve koagülaz negatif stafilokoklar da yenidoğanlarda menenjit etkeni olabilirler. Tedavide ampisilin ile birlikte sefotaksim verilir. Geç sepsisle birlikte gelişen menenjitlerde vankomisin ile birlikte sefotaksim (veya seftazidim) tedavisi de verilebilir, bu antibiyotiklere bir aminoglikozit de eklenebilir. GBS ve *L. monositogenes* menenjitlerinde ampisilin ile birlikte gentamisin; *E. coli* ve diğer *Enterobacteriaceae türleri* ile gelişen menenjitlerde ise sefotaksim ile birlikte bir aminoglikozit kullanılmalıdır. *Pseudomonas aeruginosa* menenjitinde seftazidim ile birlikte aminoglikozit verilmelidir. *Stafilokok türleri* ile gelişen menenjitlerde de vankomisin kullanılmalıdır. *Enterokok* menenjitinde ampisilin ile birlikte bir aminoglikozit, eğer enterokok ampisiline dirençli ise vankomisin ile birlikte gentamisin verilmelidir. Yenidoğan menenjitlerinde tedavi süresi 14 - 21 gündür. Tedavi süresi, kanıtlanmış gram pozitif bakterilerle gelişen menenjitlerde en az 14 gün, gram negatif bakterilerle gelişen menenjitlerde ise en az 21 gün olmalıdır (6, 7, 19, 20, 37, 40).

Yenidoğanlarda yaşamın ilk yedi ile on günü arasında gelişen pnömoni için ampisilin ile birlikte bir aminoglikozit veya sefotaksim verilmelidir. Nozokomiyal pnömonide ampirik tedaviye vankomisin ve üçüncü kuşak sefalosporin (sefotaksim veya seftazidim) ile başlanmalıdır. Kemik ve eklem enfeksiyonlarında vankomisin ile birlikte gentamisin veya sefotaksim tedavisi verilmelidir (6, 7, 19, 20).

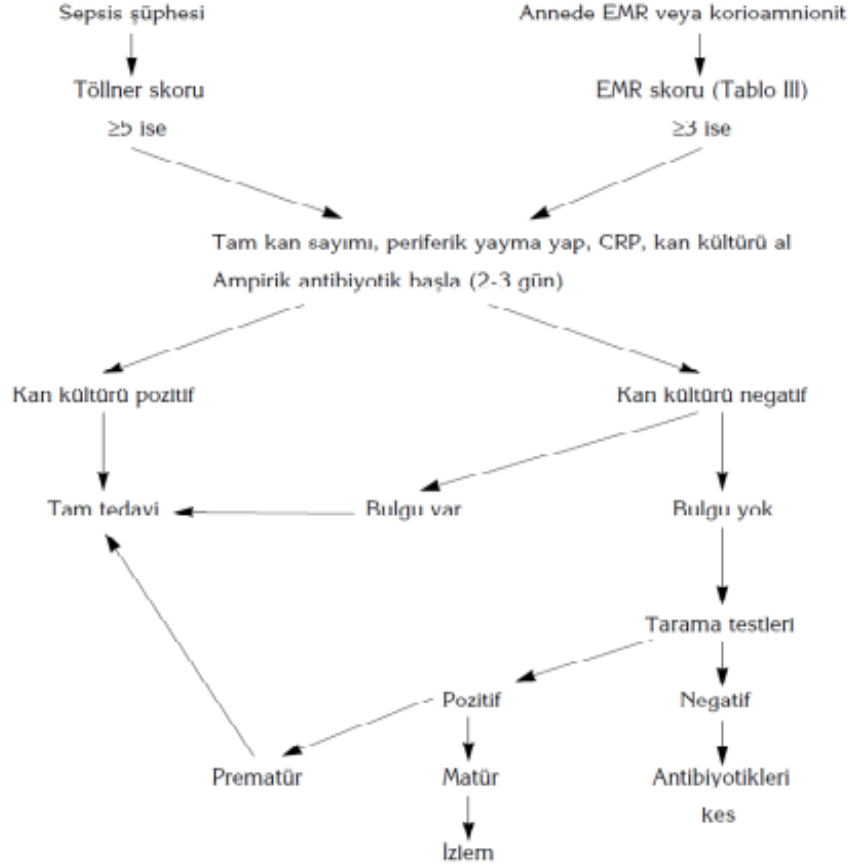
Sepsiste destekleyici tedavi çok önemlidir. Hastanın beslenmesi sürdürülmeli, elektrolit ve glukoz düzeyleri normal sınırlarda tutulmalı, asidoz

ve hipovolemi önlenmeli, çok erken tanımlanarak derhal tedavi edilmelidir (6, 21, 23). Hipoksi düzeltilmeli, gerektiğinde solunum cihazı kullanılmalıdır (6, 20, 21, 23). Konvülsiyon varsa antikonvülsif tedavi uygulanmalı ve konvülsiyon nedeni bulunmalıdır. Dissemine intravasküler koagülasyon gelişmişse taze donmuş plazma, trombosit veya eritrosit süspansiyonu verilmelidir (6, 21, 23). Adrenal yetmezlik durumunda kortikosteroid kullanılmalıdır (21). Prematüre ve/veya düşük doğum ağırlıklı bebeklerde enfeksiyon veya sepsis profilaksisi için rutin intravenöz immünglobülin (İVİG) uygulaması önerilmemektedir (6, 23, 25, 109). Yenidoğan sepsisinde İVİG tedavisinin yararlı olduğu yönünde bulgular varsa da, İVİG tedavisinin yenidoğan sepsisinde mortaliteyi azalttığı kanıtlanamamıştır (20, 21, 110). Yenidoğan sepsisinin tedavisinde granülosit transfüzyonu veya G - CSF uygulanmasının yararlı olduğu da gösterilememiştir (20, 110). Halen yenidoğan sepsisi tedavisinde antibiyotik tedavisine ek olarak oral laktoferrin kullanımının yararlı olup olmadığını ortaya koyan yeterli veri de bulunmamaktadır (111).

Klinik belirti ve bulguları sepsis düşündüren bir yenidoğan bebekte tanıya yönelik incelemeler yapıldıktan ve kan kültürü ve diğer kültürler alındıktan sonra hemen intravenöz yolla ampirik antibiyotik tedavisine başlanmalıdır. Ciddi bakteriyel enfeksiyon gelişme riski taşıyan ancak henüz asemptomatik olan bir yenidoğan bebeğe (örneğin koryoamnionitli bir annenin bebeği) kültür sonuçları beklenirken tarama testleri anormal bulunduğu anda ampirik antibiyotik tedavisi başlanması gerekebilir (6, 7, 19, 20). Yenidoğan sepsisli bebeğe yaklaşım ile ilgili algoritma şekil 4 de gösterilmiştir.

Prognozda erken sepsisli bebeklerin % 5 - 20'si, geç sepsisli bebeklerin %5 - 10'u kaybedilmektedir. Yenidoğan sepsisinde tedavisiz vakalarda mortalite oranı % 50'ye kadar çıkmaktadır (6, 7, 9, 11 19, 20). Zamanında doğan bebeklerde sepsise erken tanı konulduğunda ve uygun tedavi verildiğinde uzun dönemde önemli bir sağlık sorunu ortaya çıkmamaktadır. Düşük doğum ağırlığı ve gram negatif enfeksiyon mortalite ve sekel riskini artırır. Yenidoğan sepsisinin prematüre ve düşük doğum

ağırlıklı bebeklerde büyümeyi, nörolojik gelişimi olumsuz etkileme riski; zamanında ve normal ağırlıkta doğan bebeklerden daha fazladır (113 – 114).



Şekil - 4: Yenidoğan sepsisine yaklaşım (83).

Yenidoğan menenjit neonatal sepsiste ciddi bir morbidite nedenidir, sepsisli yenidoğanlarda mortalite oranını artırır, tüm yenidoğan ölümlerinin %4'ünden sorumludur. Sepsisi olan prematüre bebeklerde menenjit olmasa bile proenflamatuar moleküllerin beyin gelişimi üzerine olumsuz etkileri olduğu, uzun dönemde bilişsel ve gelişimsel kısıtlılıklar ve serebral palsi gelişimi riskini artırdığı gösterilmiştir. Septik menenjit gelişen yenidoğanlarda uzun dönemli nörolojik zedelenme olasılığı % 15 - 30'dur (113, 114).

Bütün dünyada yenidoğan enfeksiyonları ve gastrointestinal kanalda patojen bakteri kolonizasyonunun önüne geçmede en etkili önlem anne sütüyle beslenmedir. Anne sütüyle beslenmenin koruyucu etkisini daha da

aydınlatan çeşitli çalışmalar vardır. Gelişmekte olan ülkelerin çoğunda bakteri enfeksiyonlarına karşı en ekonomik korunmayı tek başına anne sütüyle beslenme sağlar (136).

Yenidoğan sepsisi önemli bir morbitide ve mortalite sebebidir. Neonatal sepsis tanısı koymak ve tedavisine erken başlamak ortaya çıkabilecek mortalite ve gelişebilecek sekelleri önleme açısından çok önemlidir. Bu nedenle hızlı tanı için günümüzde altın standart olarak kullanılan kan kültürü sonucundan daha hızlı tanı koyamaya yarayacak yüksek duyarlılık ve özgüllükte yeni tanı yöntemlerine ihtiyaç vardır. Son zamanlarda literatürde 16 S rRNA geni ve PCR ile bakteriyel sepsiste tanı koymada yüksek duyarlılık ve özgüllükte tanı yöntemi kullanılmaktadır (115 - 118). Ancak bu tanı yöntemi için yapılan çalışma sayısı azdır, ülkemizde bu konu hakkında çalışmaya literatürlerde rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, 16S rRNA geni ve Eş Zamanlı PCR tekniklerini kullanarak, yenidoğan sepsisinin tanısına yönelik hızlı, güvenilir ve esnek bir yaklaşım geliştirmektir. Geliştirilen bu yaklaşım sepsis tanısı klinik olarak konulan hastalarda diğer test yöntemleri ile birlikte uygulanarak etkinliği değerlendirilecektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Aralık 2010 - Temmuz 2012 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'ne klinik ve/veya laboratuvar olarak sepsis tanısı konulan 100 (preterm ve term) bebek hasta grubu; hiperbilirubinemi, prematürite gibi çeşitli nedenlerle yatırılan ve klinik ve laboratuvar bulguları ile sepsis ekarte edilen 50 bebek de kontrol grubu olmak üzere toplam 150 hasta alındı.

Tüm bebeklerin yaşı, gestasyonel haftası doğum ağırlığı, cinsiyeti, doğum şekli kaydedildi. Maternal özellikleri; EMR varlığı, EMR süresi, preterm eylem, ateş, koryoamnionit, GBS kolonizasyonu, GBS bakteriürisi, idrar yolu enfeksiyonu (İYE), önceki bebekte invazif GBS hastalığı, çoğul gebelik, antibiyotik alımı ve antibiyotik alım süresi, preeklampsi, neonatal özellikleri; prematüre, DDA, erkek cinsiyet, 5.dakika APGAR skorunun 6'nın altında olması kaydedildi. Santral kateterizasyon, mekanik ventilasyon, total parenteral beslenme gibi sepsis için risk oluşturabilecek faktörler değerlendirildi.

Hipo - hipertermi, apne, beslenme intoleransı, kusma, emmede azalma, abdominal distansiyon, taşikardi, bradikardi, siyanoz, takipne, inleme, retraksiyon, sarılık, hepatomegali letarji, konvulsiyon, fontanelde bombelik püstüler deri lezyonu, deri renk değişikliği gibi semptomlar sepsis klinik bulgusu olarak kabul edildi.

EMR'li bebeklerde EMR skorlaması yapılarak skoru 3'ün üstünde olan bebekler sepsis olarak kabul edildi (83, 84).

Sepsis grubunda sepsis başlangıç zamanına göre hastalar erken, geç ve çok geç başlangıçlı sepsis olarak gruplandırıldı. Yaşamın ilk 3 günü içinde olan sepsis erken, 4 - 30 gün arasında olan sepsis geç, 30 günden sonra ortaya çıkan sepsis ise çok geç başlangıçlı sepsis olarak kabul edildi.

Neonatal sepsise ait klinik ve/veya laboratuvar bulguları olan vakalar Gitto ve ark. (119) tarafından tanımlanmış olan kriterlere göre 4 gruba ayrıldı.

Sepsisle ilişkili klinik ve laboratuvar bulgusu olmayan olgular kontrol grubu olarak alındı. Tablo - 1'de gruplara ayırma kriterleri görülmektedir.

Tablo - 1: Çalışmaya alınan bebeklerin gruplandırılmasında kullanılan kriterler.

Gruplar	Kriterler
Grup 1 Yüksek olasılıkla sepsis	En azından üç tane sepsis ile ilişkili klinik bulgu* CRP > 1mg/dl CRP dışında en azından iki serum parametresinde değişiklik** Kan kültürü pozitif veya negatif olanlar
Grup 2 Sepsis olasılığı fazla	Üçten az sepsis ile ilişkili klinik bulgu CRP > 1mg/dl CRP dışında en azından iki serum parametresinde değişiklik Kan kültürü negatif olanlar
Grup 3 Sepsis olasılığı az	Üçten az sepsis ile ilişkili klinik bulgu CRP < 1mg/dl CRP dışında ikiden az serum parametresinde değişiklik Kan kültürü negatif olanlar
Grup 4 Sepsis yok (kontrol grubu)	Sepsis ile ilişkili klinik bulgu yok CRP < 1mg/dl Serum parametresinde değişiklik yok Kan kültürü negatif olanlar

* Sepsisle ilişkili klinik bulgular: Isı değişiklikleri, apne, oksijen gereksiniminde artış, ventilasyon ihtiyacı, taşikardi/bradikardi, hipotansiyon, beslenme intoleransı, abdominal distansiyon, nekrotizan enterokolit.

** CRP dışındaki serum parametreleri: Lökosit sayısı, absolü nötrofil sayısı ve trombosit sayısı.

CRP C – reaktif protein

Kan kültürü sonucu polimikrobiyal üreme olarak gelen hastalar CRP değeri negatif ve klinikte ek bir değişiklik olmaması durumunda ise kültür sonuçları kontaminasyon olarak kabul edildi.

Çalışma için gerekli kriterleri sağlayan, sepsis ihtimali olan ilk üç gruptaki bebeklerden rutin girişimler sırasında ilk antibiyotik dozu yapılmadan önce, antibiyotik tedavisinden 48 - 72.saat sonrası tam kan sayımı, CRP, PCT SAA için kan örneği ve kan kültürü alındı. Alınabilmişse BOS, idrar ve trakeal aspirat ve kültürleri gönderildi. Dördüncü gruptaki sağlıklı kontrol grubundan ise sadece başlangıç değerleri alındı.

Laboratuvar incelemelerinde; hematolojik parametreler Manroe and Rodwell skorlama sistemine (120) göre değerlendirildi ve lökopeni, total lökosit sayısı (WBC) < 5000 / mm³, lökositoz doğumda >20000 / mm³ olarak kabul edildi. Trombositopeni, trombosit sayısının < 150000/mm³ olması olarak değerlendirildi.

Tüm olgularda antibiyotik tedavisi başlanmadan önce akut faz reaktanı olarak CRP, PCT ve SAA çalışıldı. CRP >0.5 mg/dl, PCT > 0.5 ng/ml ve SAA > 6.8 mg/dl değerleri pozitif olarak kabul edildi.

Başlangıç tedavisi olarak erken sepsis olan hastalara Ampisilin, Gentamisin, geç sepsisli olgulara Sefotaksim, Amikasin şeklinde antibiyoterapi başlandı ve kültür antibiograma göre tedavileri düzenlendi. Antibiyotik tedavileri klinik ve laboratuvar düzelme sağlandıktan sonra kesildi.

Kan kültürleri BACTEC yöntemi ile BACTEC 9240 cihazı (Becton Dickinson, Germany) ile değerlendirildi. PCR ve kan kültürü için eş zamanlı alınan örnekler antibiyotik başlamadan önce venöz olarak ya da yeni yerleştirilmiş santral katater yolu ile alındı. Santral kataterden alınan örnekler sadece katater yerleştirilmesinden kısa süre sonra alınması durumunda uygun kabul edildi. Venöz kan alım öncesi cilt isosol antiseptik çözelti ile dezenfekte edildi.

Kan kültürü için olan kan (0,5 - 1 ml) pediyatrik BACTEC kan kültürü şişelerine hemen alındılar. Şişeler mikrobiyoloji laboratuvarında üretici firmanın önerilerine göre, alımından sonraki 1 saat içinde Bactec 9240 otomatik kan kültürü cihazına yüklendiler. Saptanabilir karbondioksit üretimi için BACTEC 9240 tarafından işaretli olan kan kültürü şişelerinin materyali gram ile boyandı ve uygun agar-bazlı kültür plaklarında kültüre edildi.

Cildin dezenfeksiyonu sonrası kan kültürü ile eş zamanlı olarak hemogram için alınan EDTA'lı kan biyokimya laboratuvarında çalışıldıktan sonra hemogram tüpü (0,5 - 1 ml) PCR için ayrıldı. PCR için ayrılan kan +4 - +8 °C'de saklandıktan sonra çalışıldı.

A. Kandan DNA İzolasyonu

Örneklerden DNA izolasyonu REALPURE SPIN KIT – REAL kiti (Durviz, S.L.U) ile yapılmıştır. Tam kandan DNA izolasyonu için geliştirilmiş bu kit, bakteri DNA'sını da izole edebilmesi için aşağıdaki şekilde modifiye edilmiştir:

1. 1.5 ml'lik tüp içerisine 100 µl tam kan, 100 µl lizozim çözeltisi (10 mg/ml) ve 10 µl bakteri süspansiyonu eklenir.
2. 37°C'de 30 dk. inkübe edilir.
3. 180 µl Tissue Lysis Buffer (REAL - E22) ve 20 µl proteinaz K (20 mg/ml) eklenir.
4. 55°C'de 30 dk. inkübe edilir.
5. 200 µl Lysis/Binding Buffer (REAL - REA01) eklenir.
6. 70°C'de 10 dk. inkübe edilir.
7. 300 µl saf izopropanol (MP Biomedicals - No: 19400690) eklenir.
8. Karışım toplama tüpü (REAL - R30) içerisine yerleştirilen kolon (REAL - RSC01) içerisine eklenir.
9. 8.000 rpm'de 60 sn. çevrilir (Eppendorf - Centrifuge 5415R).
10. Toplama tüpü atılır, kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilir.
11. 500 µl Disinhibition Buffer (REAL - REA03) eklenir.
12. 8.000 rpm'de 60 sn. çevrilir (Eppendorf - Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atık kabına boşaltılır.
13. 500 µl Wash Buffer (REAL - REA04) eklenir.
14. 8.000 rpm'de 60 sn. çevrilir (Eppendorf - Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atık kabına boşaltılır.
15. 13. ve 14. basamaklar tekrar edilir.
16. En yüksek hızda 90 sn. çevrilir (Eppendorf - Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atılarak kolon 1.5 ml'lik steril tüpe yerleştirilir.

- 17.70⁰C'ye ısıtılmış 10 µl Elution Buffer (REAL - REA05) kolona eklenir.
70⁰C'de 60 sn. inkübe edilir.
- 18.En yüksek hızda 90 sn. çevrilir (Eppendorf - Centrifuge 5415R).
- 19.17. ve 18. basamaklar iki defa tekrar edilir.
- 20.Kolon atılır. 1.5 ml'lik tüpte izole edilen DNA vardır.

B. Eş zamanlı PCR

B1 16S rRNA Geni Dizilerinin Eldesi:

3 tür için de 16S rRNA geni dizileri, online veri tabanı olan "Ribosomal Database Project"ten alınmıştır (internet adresi: http://rdp.cme.msu.edu/hierarchy/hb_intro.jsp).

B2 Korunmuş/Korunmamış Bölgelerin Tespiti:

Korunmuş/Korunmamış bölgelerin tespiti için online bir hizalama programı olan "MultAlin" kullanılmıştır (internet adresi: <http://bioinfo.genotoul.fr/multalin/multalin.html>).

B3 Tür İçi Heterojenitenin Kontrolü:

Tür içerisinde bulunabilecek yüksek frekanslı bir varyasyon olasılığına karşı, "Ribosomal Database Project"ten (internet adresi: http://rdp.cme.msu.edu/hierarchy/hb_intro.jsp) rastgele alınan aynı türe ait 10 - 12 16s rRNA dizisinin primerler ile çoğaltılacak bölgeleri, her bir bakteri için ayrı olacak şekilde "MultAlin" kullanılarak hizalanmıştır (internet adresi: <http://bioinfo.genotoul.fr/multalin/multalin.html>).

C. Tasarım

Eş zamanlı PCR tasarımı, türler için ortak primer çifti ve türe özgü eş zamanlı PCR problemleri şeklinde yapılmıştır. Eş zamanlı PCR için TaqMan (Hidroliz) problemleri kullanılmıştır. Tasarımda en sık bakteriyel sepsis nedeni olan aşağıdaki mikroorganizmalar tasarıma alınmıştır. Tasarımda elde edilen sinyallerin renklerine bakarak hangi bakterinin amplifiye olduğu tespit edilebilmektedir (Tablo - 2). Bir bakteride birden fazla sinyal rengi kullanılarak yapılan tasarımda daha az reaksiyonda daha fazla mikroorganizma türü tespit edilmesi hedeflenmiştir. Bu tür bir tasarım yapılmadığı takdirde her bir

mikroorganizma için ayrı bir tüpte PCR çalışması yapılması ve maliyetlerin artması söz konusudur.

Tablo - 2: Eş zamanlı PCR’da tespit edilebilen mikroorganizmalar ve alınan sinyaller.

Mikroorganizma	Alınan Sinyaller		
	Rx 1	Rx 2.1	Rx 2.2
<i>Enterococcus Türleri</i>	Yeşil	-	-
<i>Escherichia coli</i>	Turuncu	-	Yeşil veya Turuncu
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Turuncu	-	Kırmızı veya Turuncu
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Turuncu	-	Sarı
<i>Haemophilus influenzae</i>	Kırmızı	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sarı	Sarı	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sarı	Turuncu	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sarı	Yeşil	-

D. Primerler

Primer dizaynı için korunmuş bölgeler olan 786-843 ve 940-1008 arasında primerler seçilmiştir. Primer tasarımı “PRIMER[®] - Primer Designer v.2.0 (Scientific & Educational Software)” yazılımı kullanılmıştır. Primerler Metabion International AG’ye sentezletilmiştir.

E. Problar

Probların dizaynında online oligo inceleme yazılımı olan, Oligo Analyzer 3.1 (Integrated DNA Technologies, Inc. <http://eu.idtdna.com/analyzer/Applications/OligoAnalyzer/>) kullanılmıştır. TIB MOLBIO Syntheselabor GmbH firmasına sentezletilmiştir.

PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen ürün, % 0.1 Ethidium Brömür içeren % 2’lik agaroz jelde 120 voltta 15 dk. yürütüldükten sonra jel,

UV transilluminatörde (KODAK - Gel Logic 200 Imaging Systems) görüntülenmiştir.

Eş zamanlı PCR cihazı olarak Corbett Research Rotor - gene™ 6000 Model:5 - plex kullanılmış ve ayarları aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

- Rotor tipi: 36 - kuyucuklu rotor
- Reaksiyon hacmi: 25 µl
- Aquiring (Veri Toplama): Green, Orange, Yellow (Yeşil, Turuncu, Sarı)
- Auto-Gain Optimisation (Kendi kendine kazanım optimizasyonu): Perform optimisation before 1st aquisition (Birinci verici alımından önce optimizasyon gerçekleştirir).

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinden önce Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesi 23 haziran 2009 tarihli 2009-12/36 karar numaralı etik kurul onayı alındı ve hastalar ailelerinden onam alındıktan sonra çalışmaya alındı.

İstatistiksel analiz Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından SPSS 20.0 for Windows paket programı ile yapıldı. Betimleyici değerler olarak median, minimum, maksimum, n ve % değerleri verilmiştir. Sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi, kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Pearson ki-kare, Fisher'in kesin ki-kare ve McNemar testleri kullanılmıştır. Karşılaştırmalarda anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya sepsis grubunda 59 erkek, 41 kız toplam 100 hasta; kontrol grubunda 25 erkek 25 kız olmak üzere toplam 50 hasta alındı. Olguların ortalama doğum ağırlığı sepsis grubunda 2063 ± 942 gram, kontrol grubunda ise 2776 ± 668 gram olarak saptandı. Olguların ortalama gestasyonel yaşları sepsis grubunda 34 ± 4.5 hafta, kontrol grubunda 37 ± 1.6 hafta olarak bulundu. Sepsis grubunun % 61'ini, kontrol grubunun % 38'ini prematüre bebekler oluşturuyordu. Sepsis grubunda DDA, % 60, kontrol grubunda ise % 32 oranında saptandı. Sepsis grubunun % 64'ü, kontrol grubunun % 48'i sezaryen ile doğmuştu. Sepsis grubunda 5. dakika Apgar skoru < 6 olan 15 olgu mevcuttu. Sepsis grubunun % 4.6'sında maternal enfeksiyon, % 21'inde EMR, % 22'sinde maternal antibiyotik alımı mevcuttu. Çoğul gebelik sepsis grubunda % 16, kontrol grubunda ise % 2 oranında tespit edildi. Preeklampsi sepsis grubunun % 10'unu, kontrol grubunun ise % 12'sini oluşturdu (Tablo - 3). Maternal özellikler açısından koryoamnionit, GBS kolonizasyonu, GBS bakteriürisi, önceki bebeğinde invazif GBS hastalığı olan anne yoktu.

Tablo - 3: Sepsis ve kontrol grubunun karakteristik özellikleri.

Çalışma Grubu	Sepsis n=100	Kontrol n=50	P değeri
Maternal özellikler			
Maternal enfeksiyon, n (%)	7 (4.6)	-	>0.05
Erken membran rüptürü, n (%)	21 (21)	-	<0.05
Antibiyotik alımı, n (%)	22 (22)	-	<0.05
Çoğul gebelik, n (%)	16 (16)	1 (2)	<0.05
Preeklampsi, n (%)	10 (10)	6 (12)	>0.05
Neonatal özellikler			
DA (g), ort±std (min-max)	2063±942 (640-4090)	2776±668 (1780-4000)	-
GY (hafta), ort±std (min-max)	34±4.5 (24-41)	37±1.6 (35-41)	-
Erkek cinsiyet, n (%)	59 (59)	25 (50)	>0.05
Prematürite, n (%)	61 (61)	19 (38)	<0.05
DDA (<2500 gram)	60 (60)	16 (32)	<0.05
5. dakika APGAR skoru <6	15 (15)	-	<0.05
Sezaryen ile doğum, n (%)	64 (64)	24 (48)	>0.05

ort±std (min-max): ortalama ± standart deviasyon (minimum-maksimum), DA doğum ağırlığı, GY gestasyonel yaş, DDA düşük doğum ağırlığı.

Sepsis ve kontrol grubunun diğer özelliklerinde ise sepsis grubunda gestasyonel yaşı 37 - 42 hafta olan % 39, 32 - 36 hafta olan % 21, 24 - 32 hafta olan % 40 hasta vardı. Kontrol grubunda ise 37 - 42 hafta olan % 62, 32 - 36 hafta olan % 19 hasta vardı, 24 - 32 hafta olan hasta yoktu. Doğum ağırlıklarına bakıldığında sepsis grubunda 40 olgunun 2500 gramın üzerinde, 17 olgunun 1500 - 2499 gram, 33 olgunun 1000 - 1499 gram, 10 olgu < 1000 gram olduğu tespit edildi. Kontrol grubunda ise 34 olgu 2500 gramın üzerinde idi. 1500 - 2499 gram arasında ise 16 olgu vardı ve daha düşük doğum ağırlığında doğan bebek yoktu. Total parenteral beslenme tedavisi alan sepsis grubunda 50 olgu, kontrol grubunda ise 8 olgu mevcuttu. Sepsis grubunda katateri olan olgu sayısı 40, kontrol grubunda ise 6 olgu vardı. Sepsis grubunda 56 olgu respiratör bakım almıştı. Sepsise bağlı mortalite oranına bakıldığında sepsis olgularının %4'ünde mortalite saptandı (Tablo - 4).

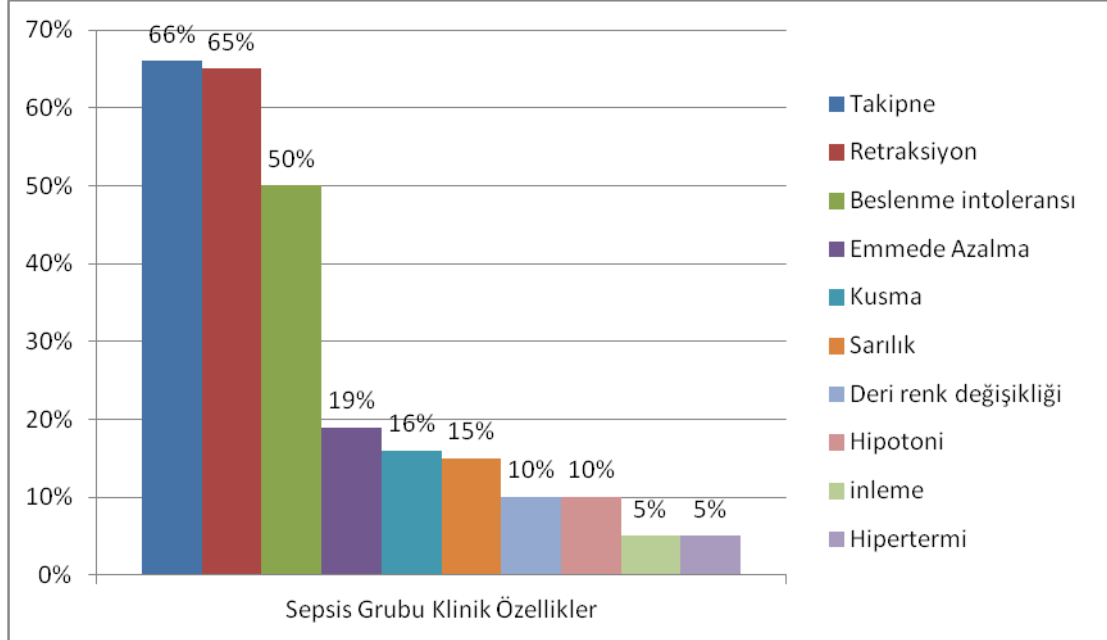
Tablo - 4: Sepsis ve kontrol grubunun diğer özellikleri.

n(%)	Sepsis n=100	Kontrol n=50
Gestasyonel yaş (37-42 hafta)	39(39)	31(62)
Gestasyonel yaş (32-36 hafta)	21(21)	19(38)
Gestasyonel yaş (24-32 hafta)	40(40)	-
DA >2500 gram	40(40)	34(68)
DA 1500-2499 gram	17(17)	16(32)
DA 1000-1499 gram	33(33)	-
DA <1000 gram	10(10)	-
Total parenteral nutrisyon	51(51)	8(16)
Katateri olanlar	40(40)	6(12)
Respiratör bakım	56(56)	-
Mortalite	4(4)	-

DA doğum ağırlığı.

Sepsis gruplarında en sık gözlenen klinik bulgular takipne (% 66), retraksiyon (% 65), beslenme intoleransı (% 50), emmede azalma (% 19), kusma (% 16), sarılık (% 15), deri renk değişikliği (% 10), hipotoni (% 10),

inleme (% 5) ve hipertermi (% 5) olarak saptandı. Sepsis grubunda klinik bulguların dağılımı Şekil - 5'de gösterilmiştir.



Şekil - 5: Sepsis grubunda sık gözlenen klinik bulgular

Sepsis grubunda 0. saat beyaz küre sayısı 13473 ± 7867 , kontrol grubunda 12993 ± 3763 olarak tespit edildi, istatistiksel olarak anlamsızdı. Sepsis grubunda 48. saat beyaz küre sayısı 12660 ± 6744 , kontrol grubunda 10640 ± 3525 olarak tespit edildi, p değeri < 0.05 olarak bulundu. Sepsis grubunda 0. saat CRP 1.85 ± 2.68 , kontrol grubunda 0.11 ± 0.16 olarak tespit edildi. Sepsis grubunda 48. saat CRP 1.84 ± 2.73 kontrol grubunda 0.28 ± 0.16 olarak tespit edildi, her ikisinde de p değeri istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Sepsis ve kontrol grubunun 0. saat SAA sırasıyla 22.2 ± 36.6 ve 3 ± 0.6 olarak bulundu, 48. saat SAA değerleri ise sırasıyla 21.8 ± 30.7 ve 3.6 ± 0.9 idi, p değerleri istatistiksel olarak anlamlıydı. Sepsis ve kontrol grubunda 0. saat PCT sırasıyla 5.5 ± 21.6 ve 0.16 ± 0.08 , 48. saat PCT değerleri ise sırasıyla 9.3 ± 30 ve 0.19 ± 0.10 olarak bulundu, her ikisinde de p değeri istatistiksel olarak anlamlı idi. Trombositopeni sepsis grubunda % 22 , kontrol grubunda ise %2 oranında saptandı; p değeri < 0.0001 olarak bulundu. Trombosit sayıları sepsis ve kontrol grubunda 0. saat sırasıyla 234129 ± 109973 ve 237464 ± 83635 , 48. saat ise 233486 ± 126033 ve $228578 \pm$

80237 olarak bulundu, her iki grubunda 0. ve 48. saat trombosit sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı (Tablo - 5).

Tablo - 5: Sepsis ve kontrol grubunun laboratuvar bulguları.

	Neonatal Sepsis n=100	Kontrol n=50l	P değeri
Beyaz küre 0.saat, mm ³ *	13473±7867	12993±3763	0.614
Beyaz küre 48.saat, mm ³ *	12660±6744	10640±3525	0,017
CRP 0.saat, g/dl*	1.85±2.68	0.11±0.16	<0,0001
CRP 48.saat, mg/dl*	1.84±2.73	0.28±0.16	<0.0001
SAA 0.saat, mg/dl*	22.2±36.6	3±0,6	<0,0001
SAA 48.saat, mg/dl*	21.8±30.7	3.6±0.9	<0,0001
PCT 0.saat, ng/ml*	5.5±21.6	0.16±0.08	<0,015
PCT 48.saat, ng/ml*	9.3±30	0.19±0.10	0.003
Trombosit 0.saat, mm ³ *	234129±109973	237464±83635	0.85
Trombosit 48.saat, mm ³ *	233486±126033	228578±80237	0.77
Trombositopeni n(%)	22(22)	1(2)	<0.0001

CRP C – reaktif protein, **SAA** seum amiloid A, **PCT** prokalsitonin

*Ortalama standart deviasyon olarak hesaplanmıştır.

Sepsis grupları PCR pozitif ve PCR negatif olarak sınıflandırıldığında lökosit sayıları sırasıyla ortalama 22993 ± 19201, 22993 ± 1920 idi. Lökositozu olan olgu sayısı sırasıyla 1 (% 33.3), 17 (% 17.5) olarak tespit edildi. PCR pozitif olan sepsis grubunda lökopeni saptanmadı, PCR negatif sepsis grubunda ise 5 (% 5.2) olguda lökopeni mevcuttu. CRP ortalama değerleri ise PCR pozitif olan olgularda 0.73 ± 0.6, PCR negatif olan olgularda 1.89 ± 2.7 idi. CRP pozitifliği ise sırasıyla 2 (% 66.7) ve 74 (% 76.2) olguda vardı. SAA ortalama değerleri ise PCR pozitif olan olgularda 9,8 ± 5,6, PCR negatif olan olgularda 22.5 ± 37.1 idi. SAA pozitifliği ise sırasıyla 2 (% 66.7) ve 52 (% 53.6) olguda vardı. PCT ortalama değerleri ise PCR pozitif olan olgularda 0.8 ± 0.9, PCR negatif olan olgularda 5.6 ± 21.9 idi. PCT pozitifliği ise sırasıyla 1 (% 33.3) ve 51 (% 52.6) olguda vardı. PCR pozitif olgularda trombositopeni saptanmadı, PCR negatif olgularda ise 22 (% 22.6) olguda trombositopeni saptandı. Ortalama lökosit sayıları, lökositoz, lökopeni,

ortalama CRP, SAA, PCT değeri, CRP, SAA, PCT pozitifliği, trombositopeni açısından gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı (Tablo - 6).

Tablo - 6: PCR pozitif ve negatif olan olguların laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.

	PCR pozitif n=3	PCR negatif n=97	P
Lökosit mm ³ , ort. \pm std	22993 \pm 19201	13178 \pm 7295	>0.05
Lökositoz (>20000/mm ³), n(%)	1 (33.3)	17 (17.5)	>0.05
Lökopeni (<5000/mm ³) n(%)	-	5 (5.2)	>0.05
CRP (mg/dl), ort \pm std	0.73 \pm 0.6	1.89 \pm 2.7	>0.05
CRP pozitifliği n(%)	2 (66.7)	74 (76.2)	>0.05
SAA (mg/dl),ort \pm std	9,8 \pm 5,6	22.5 \pm 37.1	>0.05
SAA pozitifliği n(%)	2 (66.7)	52 (53.6)	>0.05
PCT (ng/ml),ort. \pm std	0.8 \pm 0.9	5.6 \pm 21.9	>0,05
PCT pozitifliği n(%)	1 (33.3)	51 (52.6)	>0.05
Trombositopeni n(%)	-	22 (22.6)	>0.05

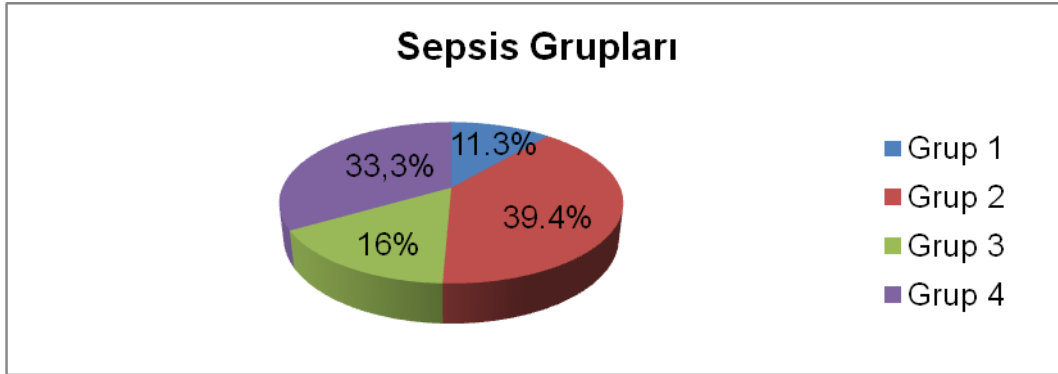
CRP C – reaktif protein, **SAA** seum amiloid A, **PCT** prokalsitonin

PCR pozitif 3 hastanın 1'inde erken başlangıçlı sepsis, 2'sinde geç başlangıçlı sepsis tespit edildi. Kan kültürü pozitif olarak sonuçlanan 7 hastanın 3'nde erken başlangıçlı sepsis, 4'nde geç başlangıçlı sepsis tespit edildi (Tablo - 7).

Tablo - 7: PCR ve Kan kültürü pozitif olgularda sepsis dönemi sınıflaması.

	PCR pozitif n=3	Kan kültürü pozitif n=7
Erken Başlangıçlı Sepsis, n (%)	1 (33.3)	3 (42.9)
Geç Başlangıçlı Sepsis, n (%)	2 (66.7)	4 (57,1)
Çok Geç Başlangıçlı Sepsis, n (%)	-	-

Gitto ve ark. (119) tarafından oluşturulan kriterlere göre hastalar grup 1 (yüksek olasılıklı sepsis), grup 2 (sepsis olasılığı fazla), grup 3 (sepsis olasılığı az), grup 4 (sepsis yok, kontrol grubu) olarak sınıflandırıldı. Grup 1'de 17 hasta (% 11.3), grup 2'de 59 hasta (% 39,4), grup 3'te 24 hasta (% 16) vardı. Grup 4'te yani kontrol grubunda 50 hasta (% 33,3) vardı (Şekil - 6).



Şekil - 6: Sepsis gruplarının sınıflamasında grupların dağılımı.

Yenidoğan sepsis olarak kabul edilen grup 1, grup 2 ve grup 3 kendi aralarında erken, geç ve çok geç başlangıçlı sepsis olarak ayrıldığında grup 1'deki 17 hastanın 10'u (% 58.8) erken başlangıçlı, 7 hasta (% 41.2) geç başlangıçlı sepsisti. Grup 1'de çok geç başlangıçlı sepsis saptanmadı. Grup 2'de 59 hastanın 31'i (% 52,5) erken başlangıçlı, 23'ü (% 39) geç başlangıçlı 5'i (% 8,5) ise çok geç başlangıçlı sepsis idi. Grup 3'te ise 24 hastanın 18'inde (% 75) erken başlangıçlı, 5'inde (% 20.8) geç başlangıçlı 1 hastada (% 4.2) çok geç başlangıçlı sepsis saptandı. (Tablo - 8).

Tablo - 8: Neonatal sepsis dönemlerinin gruplardaki dağılımları.

	Erken Başlangıçlı Sepsis n (%)	Geç Başlangıçlı Sepsis n (%)	Çok Geç Başlangıçlı Sepsis n (%)
Grup 1 n=17	10 (58.8)	7 (41.2)	-
Grup 2 n=59	31 (52.5)	23 (39)	5 (8.5)
Grup 3 n=24	18 (75)	5 (20.8)	1 (4.2)
Total n=100	59 (59)	35 (35)	6 (6)

Sepsis grubunda en sık konjenital kalp hastalığı 39, respiratuvar distres hastalığı (RDS) 36, hiperbilirubinemi 12, intraventriküler kanama 6, idrar yolu enfeksiyonu, metabolik hastalık ve multiple konjenital anomali 5, hipoksik iskemik ensefalopati 4, bronkopulmoner displazi 2 ve mekonyum aspirasyonu sendromu 1 hastada saptandı. Sepsis ve kontrol grubu karşılaştırıldığında konjenital kalp hastalığı, RDS, hiperbilirubinemi açısından istatistiksel olarak p değeri < 0.05 olarak saptandı (Tablo - 9). Kontrol grubunda konjenital nefrotik sendrom, hidrotoraks, akciğer sekestrasyonu, ensafolomalazi, tuberoskleroz, ambigeus genitale, VSD triküspit yetersizlik, periferik pulmoner stenoz, diyabetik anne çocuğu, konjenital adrenal hiperplazi ve intrauterin büyüme geriliği gibi hastalıklar olguların tetkikleri sonucunda saptandı.

Tablo - 9: Çalışma grubunun diğer hastalıklar ile ilişkisi.

n(%)	Sepsis n=100	Kontrol n=50	Total n=150	P değeri
Respiratuvar distres sendromu	36 (36.7)	-	36(24.3)	<0.0001
Hiperbilirubinemi	12(12.2)	22 (44)	34(22.9)	<0.0001
İdrar yolu enfeksiyonu	5(5.1)	-	5(3.4)	1
Mekonyum aspirasyonu sendromu	1(1)	-	1(0.7)	1
İntraventriküler kanama	6(6.1)	-	6(4)	0.179
Bronkopulmoner displazi	2(2)	-	2(1.35)	0.553
Hipoksik iskemik ensefalopati	4(4)	-	4(2.7)	0.302
Konjenital kalp hastalığı	39(39.7)	10 (20)	49(33.1)	0.031
Metabolik hastalık	5(5.1)	-	5(3.4)	0.425
Multiple konjenital anomali	5(5.1)	-	5(3.4)	0.664

Sepsis tanılı toplam 100 hastanın 7'sinde kan kültüründe üreme mevcuttu. 93 hastada ise kan kültüründe üreme saptanmadı. Sepsis tanılı 100 hastanın 3'ünde ise PCR'da amplifikasyon mevcuttu. Hastaların 97'sinde ise PCR'da amplifikasyon saptanmadı. Hem kan kültüründe üreme olan hem

de PCR'da amplifikasyon veren 1 hasta mevcuttu. PCR da amplifikasyon saptanan ama kan kültüründe üreme olmayan 2 hasta mevcuttu. Kontrol grubu olarak alınan 50 hastanın PCR sonucunda amplifikasyon saptanmadı ve kan kültüründe üreme olmadı. Kan kültüründe *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus überis* ve *Candida albicans* üremeleri gelen hastaların bu sonuçları PCR kiti tarafından tespit edilememesi nedeniyle spesifite ve sensitivite hesaplanırken bu olgular hesaplama alınmadı. Bu şekilde kan kültürü kontrol alınarak hesaplanan PCR sensitivitesi % 50, spesifitesi % 97.8, pozitif prediktif değeri % 33.3, negatif prediktif değeri ise %98.9 olarak hesaplandı (Tablo - 10).

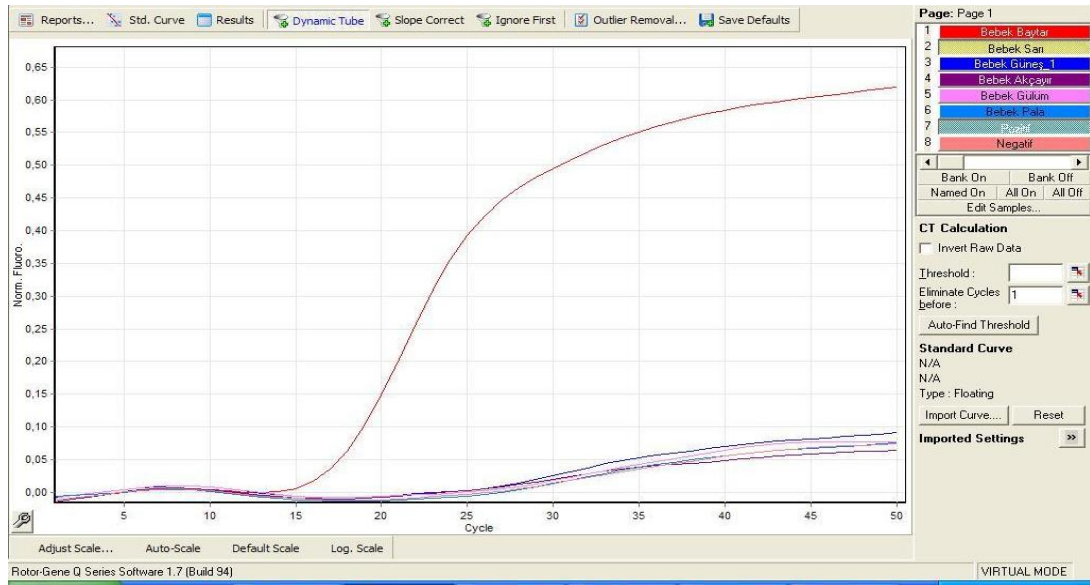
Tablo - 10: Sepsis tanılı bebeklerin tam kan örneklerinde kan kültürü ve PCR sonuçlarının karşılaştırılması.

	Kan Kültürü		
	Pozitif	Negatif	Total
PCR			
Pozitif	1	2	3
Negatif	1	91	92
Total	2	93	95

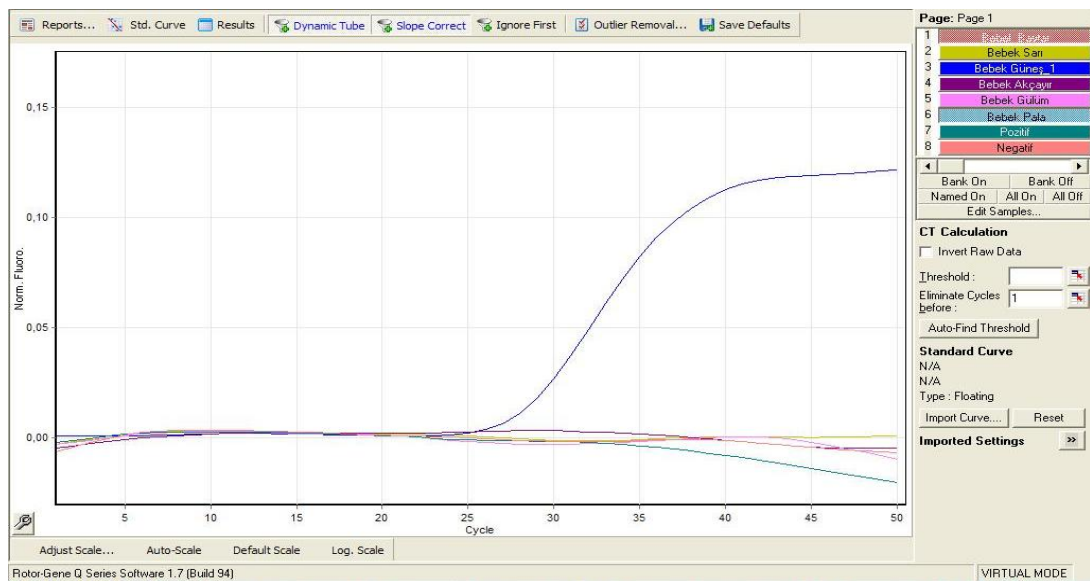
PCR sensitivitesi % 50, spesifitesi %97.8, pozitif prediktif değer %33,3, negatif prediktif değer %98.9.

Sepsis grubunda kan kültüründe 7 üreme saptandı. Üremelerin 5 tanesi gram pozitif bakteri, 1 tanesi gram negatif bakteri 1 tanesi ise mantar olarak sonuçlandı. Gram pozitif bakterilerin 4 tanesinde *koagülaz negatif staphylococcus* (1 tanesi *Staphylococcus epidermidis*, 1 tanesi *Staphylococcus haemolyticus*, 2 tanesi *Staphylococcus capitis*), 1 üreme *Streptococcus überis* olarak sonuçlandı. Kan kültüründe gram negatif bakteri üremesi ise *Escherichia coli* olarak sonuçlandı, bu üremenin eş zamanlı PCR örneğinde de *Escherichia coli* amplifikasyonu saptandı (şekil - 7). Kan kültüründeki 1 üremede *Candida parapsilosis* olarak geldi.

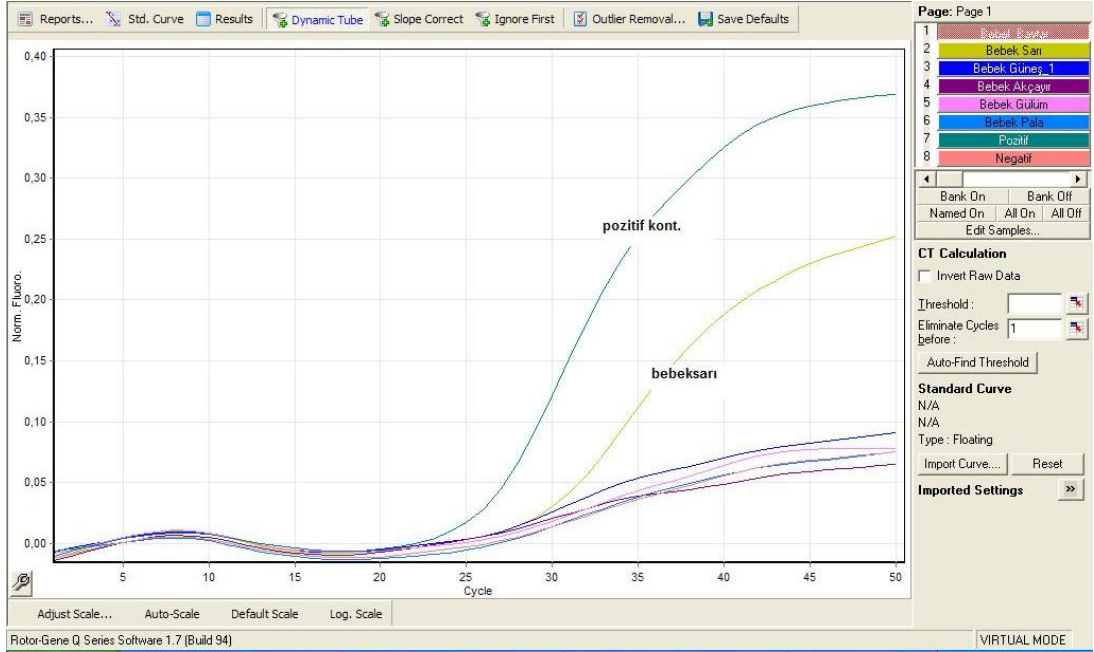
PCR amplifikasyonu saptanan 3 hasta vardı. Gram negatif amplifikasyon veren 3 örnek mevcuttu. Bunların 1 tanesi *Klebsiella - Enterococcus - Streptococcus* uyumlu bir sinyal verdi (Şekil - 8) ve bu sinyalde *Klebsiella - Enterococcus - Streptococcus* ayırımı yapılamadı. PCR pozitif olgulardan ikincisi ise *Enterococcus* amplifikasyonu verdi (Şekil - 9). PCR pozitif üçüncü olguda ise *Escherichia coli* amplifikasyonu mevcuttu (Şekil - 7). Son olgunun kan kültüründe de *Escherichia coli* üremesi tespit edildi.



Şekil -7: PCR'da *Escherichia coli* amplifikasyonu (Turuncu eğri - bkz Tablo-2).



Şekil - 8: PCR'da *Enterococcus* amplifikasyonu (Yeşil eğri – bkz Tablo – 2).



Şekil - 9: PCR'da *Klebsiella – Enterococcus – Streptococcus* amplifikasyonu (Turuncu ve Yeşil eğriler- bkz Tablo - 2 Her iki eğrinin birlikte olması nedeniyle tür ayrımı yapılamıyor ya da birden fazla tür bakteri mevcut).

Çalışma grubunda PCR'da amplifikasyon veren ve kan kültüründe üremesi olan hastalarda izole edilen mikroorganizmalar tablo - 11'de gösterilmiştir.

Tablo - 11 : Sepsis tanılı 100 bebeğin ayrıntılı kan kültürü sonuçları.

Kan kültürü sonuçları	N	%
Negatif	93	93
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> *	1	1
<i>Staphylococcus capitis</i> *	2	2
<i>Streptococcus uberis</i> *	1	1
<i>Escherichia coli</i>	1	1
<i>Candida parapsilosis</i> *	1	1
Total	7	100

*PCR kitinde tespit edilemeyen mikroorganizmalar

Sepsis grubunda 100 bebeğin 2'sinde pozitif PCR saptanmışken kan kültürleri negatif olarak sonuçlandı. Bu iki bebekte sepsis grup 2'de yer aldılar. Bu olgulardan ikisinde daha öncesinde sepsis tanısı ile izleniyordu ve antibiyotik tedavisi alıyorlardı (Tablo - 12).

Tablo - 12: PCR pozitif, kan kültürü negatif olan 2 hastanın klinik verileri ve sekans sonuçları.

ÖN	GY, hafta	Diğer klinik tanı*	Kültür Öncesi Antibiyotik alımı	Çalışma grubu**	Sekans sonuçları
1	31	Sepsis, RDS, EMR'li anne bebeği, premature	Evet, 15 gün	Grup 2	<i>Klebsiella/Streptococcus/Enterococcus</i> ***
2	31	Sepsis, premature	Evet, 5.gün	Grup 2	<i>Enterococcus</i>

RDS respiratuar distres sendromu, **EMR** erken membran rüptürü, **ÖN** örnek numarası, **GY** gestasyonel yaşı

*İki hastanında CRP (1 – 1.2 mg/dl arasında) pozitifliği mevcuttu ve 21-25 gün antibiyotik tedavisi aldılar.

**Grup1 yüksek olasılıkla sepsis, grup 2 sepsis olasılığı fazla, grup 3 sepsis olasılığı az, grup 4 sepsis yok

*** Eş zamanlı PCR'da *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Enterococcus* ayırımı yapılamamıştır.

Sepsis tanısı ile izlenen altı vakanın kan kültürü pozitifken PCR sonucu negatifti. Bunlardan iki hastanın laboratuvar bulgularında CRP negatif olarak geldi, ancak CRP ve SAA 48. saat değerlerinde artış mevcuttu. Bu hastaların ikisinde de 3'den fazla sepsis bulgusu mevcuttu. Antibiyotik tedavileri 21 güne tamamlandı. Diğer hastaların ise CRP değerleri pozitif, bu hastalarda iki ve/veya üç sepsis bulgusu vardı.(Tablo - 13).

Tablo13: Kan kültürü pozitif, PCR negatif olan tüm örneklerin özellikleri ve kültür sonuçları.

GY	Sepsis günü	CRP mg/dl	Diğer klinik tanı	Antibiyotik tedavisi günü	Sepsis	Kan kültürü sonuçları
41	8	1	İntrauterin enfeksiyon	10	Evet	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
24	1	1	RDS, PPH	3 (excitus)	Evet	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
27	20	2.4	RDS, PDA	23 (excitus)	Evet	<i>Candida parapsilosis</i>
28	1	1	RDS	21	Evet	<i>Streptococcus uberis</i>
35	7	Negatif*	Ps.hipoald.	21	Evet	<i>Staphylococcus capitis</i>
28	6	Negatif*	RDS	21	Evet	<i>Staphylococcus capitis</i>

GY gestasyonel yaş, **RDS** respiratuar distres sendromu, **PPH** persistan pulmoner hipertansiyon, **PDA** patent ductus arteriosus, **Ps.hipoald** pseudohipoaldesteronizm, **CRP C** – reaktif protein

*48.saat CRP değeri her iki hastada da 1 mg/dl, 48.saat SAA değeri 8 ve72.6 olarak saptandı.

Gitto ve ark (119) yaptığı sınıflamaya göre yüksek olasılıkla sepsis grubunda (Grup 1) kan kültürü pozitif olan 7 hasta, PCR pozitif olan 1 hasta mevcuttu ve bu grupta hem PCR hem de kan kültürü pozitif gelen 1 hasta mevcuttu. Sepsis olasılığı fazla olan grupta (Grup 2) kan kültürü pozitif olan hasta yoktu ancak PCR pozitif olan 2 hasta mevcuttu. Sepsis olasılığı az olan grupta (Grup 3) ve sepsis olmayan grupta (Grup 4) kan kültürü ve PCR pozitif olan hasta yoktu (tablo - 14)

Tablo - 14: Kan kültürü ve PCR amplifikasyonu veren olguların gruplardaki dağılımı.

	KK pozitif n(%)	PCR pozitif n(%)	PCR+KK pozitif n(%)
Grup 1* n=17	7(41.2)	1(5.9)	1(5.9)
Grup 2* n=59	0	2 ^b (3.4)	0
Grup 3* n=24	0	0	0
Grup 4* n=50	0	0	0

KK, kan kültürü

* Grup1 yüksek olasılıkla sepsis, grup 2 sepsis olasılığı fazla, grup 3 sepsis olasılığı az, grup 4 sepsis yok

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yenidoğan sepsis tanı ve tedavisindeki bütün gelişmelere rağmen hala yenidoğan dönemindeki mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden birisidir (1 - 3). Sepsis olduğu düşünülen yenidoğanların çoğunun kan kültürlerinde üreme tespit edilememektedir (6 - 10). Yenidoğan sepsisinin belirti ve bulguları genellikle nonspesifiktir. Kan kültürü sonuçları gram pozitif bakterilerin üremesi için 12 - 24 saat, gram negatif bakterilerin saptanması için 24 - 48 saate ihtiyaç olup, kültürde üreme olmaması durumunda ortalama 5 gün geçmektedir (106). Kültür sonuçları daha sonuçlanmadan, çok hızlı bir şekilde klinikte belirgin bir bozulma meydana gelebilir. Bu nedenle yenidoğan sepsisinin erken tanısının konulması ve tedavisine erken dönemde başlanması çok önemlidir (104).

Kandaki bakteriyemi saptamak için kısa sürede sonuç veren, sensitivitesi ve spesifitesi % 100 olan bir yöntemin olma ihtimali, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımını, yakın gözlem gerektiren şüpheli vakaları ve maliyeti de azaltarak sadece enfeksiyonu olan bebeklerde tedaviye başlamayı sağlayabilir (105, 115, 117, 118).

Günümüzde, yenidoğan bakteriyel sepsisinin tanısında kan kültürünün altın standart olduğu kabul edilmektedir (100). Kan kültürü tekniklerinin de düşük sensitiviteleri olabilir (63). Bunun nedenleri alınan kanda bakteri sayısının az olması, yenidoğanlardan kültür için çok az miktarda kan alınması ve yüksek riskli doğumlarda annelere intrapartum antibiyotik kullanımının artmasıdır (112). Bazı bebeklerde bakteriyemi miktarı erişkinlere göre fazla olmasına rağmen (sırasıyla 10-300 CFU/ml ve 1-30 CFU/ml), yenidoğan bebeklerden alınan kan örneği miktarı erişkinlerden alınana göre önemli oranda daha azdır (sırasıyla 0,5 - 1 ml ve 10 - 30 ml). Kellogg ve ark. yenidoğan bebeklerin yarısından fazlasının 10 CFU/ml'den az bir bakteriyemisi olduğunu gösterdi (126).

PCR gibi moleküler teknikler bakteriler, mantarlar, virusler ve protozoalar gibi organizmaların tanımlanmasında başarılı bir şekilde

kullanılmıştır (127 - 131). Kültürden farklı olarak bu tür tetkiklerde organizmayı saptamak için organizmanın üremesine ihtiyaç yoktur. Bu tekniğin *insan parvovirüs B19* (128) ve *insan papilloma virüs* (132) gibi kültüre edilemeyen patojenlerin tanımlanmasında diğer yöntemlere göre daha kısa sürede sonuç süresine ve daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu kanıtlanmıştır. 16S rRNA geni, rRNA dizilerini kodlayan genidir. *Klamidia*, *Mikoplazma*, *Aktinomiçes* gibi bakteri ve prokaryotik organizmaların hepsinde vardır, ancak virus ve mantar gibi nonprokaryotik organizmalarda yoktur. 16S r RNA dizisi yaklaşık 1500 bp uzunluğundadır ve hem korunmuş hem de değişken bölgelerden oluşmaktadır. Korunmuş bölgeler tüm bakterilerde yüksek oranda korunmuştur ve değişken bölgeler, uzun bir evrim süreci içinde meydana gelen mutasyonlara bağlı olarak farklı bakterilerde farklıdır. Böylece, özel primerler kullanılarak 16S rRNA geni ile farklı bakteriler birbirinden ayrılabilir. Yenidoğan sepsisinde tanı için 16S rRNA geni ve PCR yöntemi ile ilgili çeşitli çalışmalarda PCR'in sensitivitesi ve spesifitesi yüksek olarak bulunmuştur (22, 27, 90, 91, 104 - 108, 115 - 118).

Kan kültürü ile karşılaştırıldığında eş zamanlı PCR tetkiki için gereken süre daha azdır. Tüm testi tamamlamak için 4 saat gibi kısa bir süre gerektirmektedir. PCR tetkiki için gerekli olan kan miktarı daha azdır. Önceki uygulanan antibiyotiklerin etki olasılığını azaltmaktadır. Kandaki ölü ve canlı mikroorganizmaları saptayabildiği, kandaki çok az bakteri sayısı ile amplifikasyon verebildiği için eş zamanlı PCR kan kültürüne oranla yenidoğan bakteriyel sepsisi tanısında büyük avantaj sağlar (22, 27, 90, 91, 104 - 108, 115 - 118).

Bu çalışma bakteriyel sepsisi olan yenidoğanlardan alınan kanda bakterileri saptamada, ülkemizde geliştirilmiş olan 16S rRNA geni ile eş zamanlı PCR ile BACTEC 9240 sisteminin yararlarını kıyaslamak için değil, fizibilite çalışması olarak tasarlandı. Literatürde bu konuda ülkemizde yenidoğan sepsisi ile ilgili başka bir çalışmaya rastlamamızda bu çalışmayı yapma nedenlerimizden biriydi.

Sepsis tanılı 100 yenidoğan kan örneğinde kan kültüründe 7 üreme (% 7), eş zamanlı PCR'da 3 amplifikasyon (% 3) saptandı. Kan kültürü ve

PCR pozitif bir olgu saptandı. Kan kültüründe olan 7 üremeye ait 5 organizma, kullanmış olduğumuz PCR kitinde tespit edilemeyeceği için spesifite ve sensitivite hesaplanırken bu dikkate alındı. Çalışmamızda eş zamanlı PCR için kan kültürü kontrol olarak hesaplanan sensitivite % 50, spesifite % 97.8, pozitif prediktif değer % 33.3, negatif prediktif değer % 98.9 olarak saptandı. Laforgia ve ark. (115) 1997'de yaptığı bir çalışmada 33 yenidoğan sepsisi tanısı ile izledikleri hastalarda kan örneklerinde 4 pozitif kan kültürü ve kan kültürü pozitif olan örneklerin hepsinde pozitif PCR amplifikasyonu buldu. Kan kültürü negatif olan örneklerde 2 adet PCR pozitif amplifikasyon saptamışlardı. Jordan ve Durso'nun (104) 2000 yılında yaptığı 548 kan kültürü içeren çalışmada PCR'in sensitivitesini % 96, spesifitesini % 99.4, pozitif prediktif değerini (PPD) % 88.9, negatif prediktif değerini (NPD) % 99.8 olarak saptadılar. Shang ve ark. (116) 2001 yılında yapılan diğer bir çalışmada kan kültürü pozitif seçilmiş 26 örneğin 22 kan örneği PCR'da pozitif amplifikasyon verdiğini göstermişlerdi. Yadav ve ark. (117) 2005 yılında yayımlanan makalesinde ise PCR'in sensitivitesini % 100, spesifitesini % 95.6 olarak buldular. Son yıllarda yapılan diğer çalışmalarda ise Ohlin ve ark. (90) 245 hastanın 50 pozitif kan kültüründe PCR'in sensitivitesini % 42, spesifitesini % 95, PPD'ini % 64, NPD'ini % 89 olarak; Shang ve ark. (22) ise sırasıyla PCR'in sensitivite ve spesifitesini sırasıyla % 100, % 97.85 olarak buldular. Tonje Reier-Nilsen ve ark. (109) 2009'da yaptığı çalışmada ise PCR'in sensitivitesi % 66.7, spesifitesi % 87.5, PPD % 95.4 ve NPD % 75 olarak saptadılar. 2009 yılında Li-Hua Chen ve ark. (118) yaptıkları çalışma da ise PCR'in sensitivitesini % 100, spesifitesini % 94.4 olarak saptadılar. Fujimori ve ark. (105) 2009'da yayınladıkları makalede 26 hastanın 39 sepsis atağında yapmış oldukları çalışmada 39 kan örneğinin 6 tanesinde kan kültürü pozitif, 15 tanesinde ise PCR amplifikasyonu saptadılar. Ohlin ve ark. (108) 2012'de yayınlanan makalesinde PCR'in sensitivitesini % 79, spesifitesini % 90, PPD % 59 ve NPD % 96 olarak saptadıklarını gösterdiler. Çalışmalar tablo 15'de gösterildi.

Tablo - 15: PCR çalışmalarının sensitivite ve spesifiteleri.

Araştırmacıların adı	PCR sensitivitesi %	PCR spesifitesi %	Örnek sayısı n	PPD %	NPD %	Çalışma yılı
Jordan ve Durso	96	99.4	548	88.9	99,8	2000
Yadav ve ark.	100	95.6	100	69.2	100	2005
Shang ve ark.	100	97.85	172	47	100	2005
Ohlin ve ark.	42	95	295	64	89	2008
Reirer-Nielsen ve ark.	66.7	87.5	48	95.4	75	2009
Li-Hua Chen ve ark.	100	94.4	190	60	100	2009
Ohlin ve ark.	79	90	368	59	96	2012
Bizim çalışmamız	50	97.8	100	33.3	98.9	2012

Bizim çalışmamız, Ohlin ve ark. (90) 2008'de, Tonje Reier-Nielsen ve ark. (107) 2009 yılında yayınlanan çalışmaları ile kıyaslandığında sensitivite ve spesifite oranları birbirine yakındı. Diğer çalışmalarla kıyasladığımızda çalışmamızın sensitivite oranını ve pozitif prediktif değerini düşük olarak tespit ettik. Bunun nedeninin kan kültüründe üreyen bakterilerin çalıştığımız PCR kitinde tespit edilememesi olabilir. Ohlin ve ark. (90) 2008'de yaptıkları çalışmada sensitivite ve spesifiteyi düşük olarak buldular, ancak 2012 yılında yaptıkları çalışmada (108) 6 farklı prob kullanarak yani bakteri aralığını genişleterek, örneklerinde tam kan ve mutanolizin kullanarak PCR sensitivitesini ve spesifitesini arttırdılar. Biz de çalışmamızda PCR örneği için tam kan kullandık ve mutanolizin ekledik. Ancak bizim PCR protokolünde tek bir genel prob kullanıldı ve sadece kılavuz kitaplarda en sık görülen bakterilerden oluşan sadece 8 bakteri türünü içeren kit mevcuttu. Bu kiti kullanmamızın sebebi ülkemizde tasarlanmış olması ve ekonomik olmasıdır. Bulut ve ark (30), Kaynak Türkmen ve ark (31) yaptığı çalışmalarda erken sepsiste en sık görülen patojenlerin *Klebsiella türleri*, *koagülaz negatif stafilokoklar* ve *S. Aureus* olduğu saptanmıştı. Geç yenidoğan sepsisli bebeklerde yapılan diğer bir çalışmada da (23, 33) kan kültürü ile kanıtlanmış nozokomiyal yenidoğan sepsisinde en sık *Klebsiella türlerinin* izole edildiği, diğer önemli etkenlerin *Serratia türleri*, *koagülaz negatif stafilokoklar*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* ve *Candida* olduğu saptanmıştı.

Bu bulguları da göz önüne alırsak kullandığımız PCR kitine mevcut bakteriler haricinde diğer bakteri ve mantar türlerinin eklenmesi PCR'in sensitivite ve pozitif prediktif değerlerini arttırabilir.(30,31).

Yenidoğan sepsisi tanısında moleküler testler üzerine yapılan 23 çalışmanın metaanalizinde % 95 güven aralığı ile tahmini % 95 sensitivite ve spesifite saptandı. Ortalama sensitivite ve spesifite sırasıyla 0.99 (% 95 güven aralığı: 0.78 – 0.95) ve 0.96 (% 95 güven aralığı:0.94 – 0.97) idi. Bu metaanaliz eş zamanlı PCR ve geniş aralıklı (broad range) PCR yöntemlerinin diğer yöntemlere göre daha sensitivite ve spesifiteye sahip olduğunu göstermiştir (91).

Bizim çalışmamızda eş zamanlı PCR yöntemi ile kandan bakteriyel DNA analizi ve çoğaltılması yaklaşık olarak 4 saatte tamamlandı. Bu süre Laforgia ve ark. (115) yaptıkları çalışmada 6 saat, Jordan ve ark. (104) 2000 yılında yaptıkları çalışmada yaklaşık 9 saat, Shang ve ark. (116) 2001 yılında yaptığı çalışmada yaklaşık 6 saat olarak belirttikleri süreden kısadır. Yine Jordan'ın (106) eş zamanlı PCR yöntemi kullanarak yaptığı ve 2005 yılında yayımlanan makalesinde bu süreyi yaklaşık olarak bizim çalışmamızda olduğu gibi 4 saatte tamamlamışlardır.

Çalışmamızda kan kültürü negatif olarak saptanan ama PCR'da pozitif amplifikasyon veren 2 olgu mevcuttu. Bu iki hastadan birincisinin 31 haftalık prematüre idi. Bu olgunun sepsis, EMR'li anne bebeği, RDS tanıları da mevcuttu. Bu hastanın CRP değeri 1 mg/dl idi ve 3 sepsis bulgusu vardı. PCR ve yeni kan kültürü için örnek alımından önce 15 gün antibiyotik alımı mevcuttu. Hastanın kan kültüründe üremesi olmadı, ancak PCR'da *Klebsiella-Enterococcus - Streptococcus* amplifikasyonu mevcuttu. PCR sonucundan sonra antibiyotik tedavisi değiştirilen hasta toplam 25 gün antibiyotik tedavisi aldı, klinik bulguları geriledi ve antibiyotik tedavisi kesildi. İkinci hasta da 31 haftalık premature idi. Sepsis tanısı ile izlenen hastanın CRP değeri 1.2 mg/dl idi. Takipne ve retraksiyonlarında artış olan hastanın genel durumunda kötüleşmesi nedeniyle alınan PCR örneğinde *Enterococcus* amplifikasyonu saptandı, ancak kan kültüründe üremesi olmadı. PCR sonucundan sonra antibiyotik tedavisi değiştirilen hasta toplam 22 gün antibiyotik tedavisi

aldıktan sonra klinik durumunun düzelmesi üzerine antibiyotik tedavisi kesildi (tablo - 12). PCR amplifikasyonunun bakteriyel DNA'yı saptamada duyarlı olduğunu göz önünde bulundurursak, kanda çok az miktarda bakteri varsa kantitatif olarak kan kültüründe görülebilir bir büyümenin saptanabilmesi için yeterli olmayabilir. Ayrıca az miktarda alınan kan örneği farklı kültür ortamlarına ekildiyse özellikle yenidoğanlarda %27'ye varan oranda sepsisin tanımlanamadığı gösterilmiştir (100). Sepsisli olguların daha önceden antibiyotik alımı mevcudiyeti kan kültürlerinde üreme olmasını engelleyebilir. Bu iki olgununda klinik ve laboratuvar bulguları sepsis olasılığı fazla olan grup 2'de yer alması, hastaların daha önce antibiyotik tedavisi alması, 31 haftalık prematürlerde kültür ve PCR için alınan materyalin az olması bunun kan kültürünün tespit edemediği ama PCR'da tespit edilmiş bir bakteriyemi olabileceğini düşündürdü. Böylece sepsisli olgularımızın kanında bakteri saptanması PCR ile yaklaşık % 30 oranda artmış oldu. Eş zamanlı PCR muhtemelen kan kültürü ile saptanamayan patojenleri saptamıştı. Biz bu çalışmada bakterilerin kan örneğinde mevcut olduğunu ve laboratuvardaki kontaminasyondan kaynaklanmadığını düşünüyoruz. PCR çalışması sırasında laboratuvar kontaminasyonlarının engellenmesi için hasta örneğinin konulduğu PCR çalışılan tüp ile aynı zamanda, aynı malzemeler ile çalışılan ve içine hasta örneğinin konulmadığı diğer bir tüpte de örnekler çalışılmaktadır. Özetle bu tüpe tüm PCR malzemeleri konulmakta ancak hasta örneği konulmamaktadır. Buna negatif kontrol adı verilmektedir. Çalışmanın yanlış negatif sonuçlarını azaltmak için çalışmaya eş zamanlı olarak bakteri kültürlerinden elde edilen pozitif örneklerde başka bir tüpte çalışılmakta ve PCR'ın etkin olarak çalıştığı gösterilmektedir. Buda pozitif kontrol olarak isimlendirilmektedir. Bu sebeple PCR'da kontaminasyonlar büyük ölçüde engellenmektedir.

Çalışmamızda kan kültürü pozitif olan ama eş zamanlı alınan örneklerinde PCR'ı negatif 6 olgu mevcuttu. Bu hastaların klinik bulgu ve kan kültürü sonuçları Tablo - 13'te gösterildi. Bu olguların 5 'inde çalışmamızdaki PCR kitinin tespit edemediği bakteriler ve *Candida* üremesi mevcuttu. Tüm bu üreyen bakterileri göz önüne alırsak kan kültüründe üreme olan 6

hastadan sadece *Staphylococcus epidermidis* üreyen hastada PCR pozitifliği beklenirdi. Antenatal ultrasonunda karaciğerde hipoekojenik lezyon nedeni ile intrauterin enfeksiyon ön tanısı ile izlenen bu hastanın kusma, emmede azalma, beslenme intoleransı nedeni ile alınan kan kültüründe stapylococcus epidermidis üremesi mevcuttu. CRP değeri pozitif, ama gönderilen PCR örneğinde amplifikasyon saptanmadı. Antibiyotik tedavisi 10 güne tamamlanan hasta, bulgularının düzelmesi ve CRP değerinin negatifleşmesi üzerine taburcu edildi. Bu hastada kan kültürü sonucunun pozitif olması kontaminasyona bağlı olduğunu düşünmedik. Hastanın klinik bulgularının olması, CRP pozitifliği ve başlanan antibiyotiğe klinik ve laboratuvar değerleri sonucu ile yanıt vermesi bize bu olgunun sepsis olduğunu düşündürdü. Alınan örneğin tekrarlanan eş zamanlı PCR testlerinde ise amplifikasyon saptanmadı. Bu şekilde sadece bir hastamız olsa da kullandığımız PCR kitinin *Staphylococcus epidermidis* ve diğer *kogülaz negatif bakterileri* tespit etmediğini düşünürsek bu bakteriler için ayrı bir prob oluşturarak eş zamanlı PCR uygulaması yapılabilir. Bu şekilde ayrı bir prob kullanarak yapılacak eş zamanlı PCR uygulaması ile bu bakteriler tespit edilebilir. Bu hasta için diğer bir olasılık da PCR panelinde yer almayan bir bakterinin bu sepsise yol açması, *Staphylococcus. epidermidisin* kontaminasyon olarak kan kültüründe bulunması olabilir. Bu nedenle hasta değiştirilen antibiyotiğe yanıt vermiş olabilir ancak eş zamanlı PCR ile tespit edilememiş olabilir. Bu olasılıkların hangisinin doğru olduğunu gösterecek bir yöntem bulunmamaktadır.

Risk faktörlerine bakıldığında çalışmamızda annede EMR varlığı, annede antibiyotik alımı, çoğul gebelik, prematürite, DDA, 5. dakika APGAR skorunun < 6 olması istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptadık. Bu risk faktörleri literatür ile uyumluydu (6, 7, 11, 15 - 20). Çalışmamızda preeklampsi ve sezaryen doğum istatistiksel olarak değerlendirildiğinde sepsis için bir risk faktörü olmadığını tespit ettik. Term erkek bebeklerin sepsis insidansı, term kız bebeklerden iki kat daha fazladır. Fakat bu fark düşük doğum ağırlıklı bebeklerde bu denli belirgin değildir (6, 23, 121, 122). Bizim çalışmamızda sepsis saptanan olguların %41'i kız, %59'u erkekti. Çalışma

grubun ortalama gestasyon haftası 34 ± 4.5 idi. Çalışma grubumuzun %61'ini prematüre bebekler oluşturuyordu ve bunların %10'u 1000 g ve altı, %33'ü 1000-1500 gram arasındaki bebekler oluşturmaktaydı. Hastalarımızın çoğunluğunun düşük doğum tartılı ve prematüre olması sepsis açısından önemli bir risk faktörüdür. Bu risk faktörleri göz önüne alındığında cinsiyetler açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.353$).

Sepsis nedeni ile kaybedilen vakalarımız sepsis grubunun %4'ünü oluşturuyordu. Yalaz ve ark. (123) mortalite oranını %15.9, Belet ve ark. (124) %67.5'u preterm olan çalışmada %33.3 olarak saptarken, Taş ve ark. (125) %17.2 olarak belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da sepsis grubunun %61'ini preterm olgular oluşturuyordu.

Sepsis grubunda takipne, retraksiyon en sık izlenen iki klinik bulgu olarak gözlemlendi. Ancak bu bulgulara eşlik eden diğer sepsis bulguları ile birliktelik mevcuttu. Sepsis grubundaki hastalarımızda RDS ve büyük arter transpozisyonu, triküspit atrezi, pulmoner kapak atrezisi gibi ciddi hastalıklarında bulunması klinik bulgu olarak bu iki bulgunun sık gözlenmesine neden olmuş olabilir.

Sepsis grubunda sıfırinci saat lökosit sayısı istatistiksel olarak anlamlı değildi. Literatürdeki çalışmalarda da sıfırinci saat lökosit sayısının anlamlı olmadığı belirtilmişti (20, 42). CRP, PCT, SAA değerleri ve trombositopeni istatistiksel olarak anlamlı saptandı ve bu bulgular literatür bilgileri ile uyumlu idi (36, 42 - 44, 47, 56 - 59).

Sepsis ve kontrol grubunun diğer hastalıklar ile ilişkisine bakacak olursak çalışmamızda sepsis grubunda en sık birliktelik gösterdiği hastalık konjenital kalp hastalığı ve RDS'dir. RDS sıklığının fazla olması sepsis grubundaki hastalarımızın ileri derece preterm, aşırı düşük ve çok düşük kilo ağırlığına sahip olgu sayısının fazla olmasından kaynaklanmıştır. Yenidoğan yoğun bakım ünitemizin Güney Marmara Bölgesi'nde birkaç üçüncü düzey yoğun bakım ünitesinden biri olması nedeni ile antenatal US'da ciddi kalp hastalıkları tespit edilen olguların fakültemize sevk edilmesi ve buna bağlı olarak yenidoğan yoğun bakım ünitemizde yatan bu hastaların sayısının fazla olması sepsis grubunda konjenital kalp hastalığı sıklığının fazla olmasının

nedeni olabilir. Kontrol grubunda ise hiperbilirubinemi anlamlı olarak yüksek olması kontrol grubunda ABO uygunsuzluğu, RH uygunsuzluğu, uzamış sarılık gibi hastalıkları olan olgu sayımızın fazla olmasında kaynaklandı. Kontrol grubunda rutin tetkikler sırasında saptanan VSD, periferik pulmoner stenoz, minimal triküspit yetersizlik gibi hemodinamiyi bozmayan konjenital kalp hastalıkları da saptandı.

Sonuç olarak yenidoğan sepsis tanı ve tedavisindeki bütün gelişmelere rağmen hala yenidoğan dönemindeki mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden birisidir. Bu nedenle yenidoğan sepsisinin erken tanısının konulması ve tedavisine erken dönemde başlanması çok önemlidir. PCR yenidoğan sepsisi ile ilişkili bakterilerin hızla saptanması ve aralarında ayırım yapılmasını sağlayacağı ile ilgili bilgiler umut vericidir. PCR'a dayalı testler kan kültürü alınmamasını sağlamayacaktır çünkü antibiyotik duyarlılığı nedeni ile hala saflaştırılmış izolatlara ihtiyaç vardır. Kan kültürü neonatal sepsisin tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak, PCR bakteriyel kültürden daha kısa bir sürede güvenilir olarak yenidoğan sepsisini ekarte edebilirse gerçekten enfeksiyonu olan yenidoğanların tedavi edilmesini sağlayabilir, böylece geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımını ve sepsisi olmayan bebeklerde antibiyotik dirençli bakteri gelişimini azaltabilir. Yenidoğan yoğunbakım ünitelerine olan bu yatışlar annelerinden ayrılmış bebekler için anneye bağlanma ve anne sütü ile beslenme konusunda zorluklara neden olmaktadır. Bu yaklaşım yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde kalış sürelerini kısaltarak aile üzerindeki olumsuz duygu yükünü azalttığı gibi sağlık sisteminde de maliyette önemli oranda azalma olmasını sağlayabilir.

Bu çalışmada sepsis açısından değerlendirilen bebeklerin örneklerinde eş zamanlı PCR incelemesinin performansı ile ilgili sınırlı bilgi sağlamaktadır. Özellikle örnek alımından önce antimikrobiyal tedavi başlanmış olan hastalarda kan kültürüne ek olarak moleküler saptama yöntemi eşlik etmelidir. Gelişim aşamasında olan bu teknoloji, antibiyotik direncinde görevli olan genler tanımlandıkça bu gene sahip olan bakterilerin PCR ile tespiti bu testin en önemli avantajı olan antibiyogram yapılamaması

durumunu ileri ki yıllarda değiştirebilir. Eş zamanlı PCR incelemesinin klinik duyarlılığı ile pozitif belirleyici değerin uygun şekilde değerlendirilmesi için kullanılan eş zamanlı PCR'da tanımlanan bakterilerin tür ve sayısının arttırılması gerekmektedir ve daha büyük, iyi tanımlanmış bebek topluluğuna sahip prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu alışma ülkemizde yenidoğan sepsisi açısından bu konuda yapılmış ilk çalışmadır.

Moleküler yöntemlerde geniş spektrumlu bakteri ve mantar panelini içeren tasarımlar yapılması tanı başarısını arttıracaktır. Hiçbir yöntemin henüz tüm sepsis vakalarını tanıyamıyor olması nedeniyle kombine yöntem kullanımları hastaların tanısında en etkin yol gibi görünmektedir.

KAYNAKLAR

- 1) Dear P. Infection in the newborn. In: Rennie MJ, Robertson NRC (eds). Textbook of Neonatology. 3rd edition. Edinburgh: Churchill Living; 1999. 1109-39.
- 2) Yurdakök M. Neonatal sepsiste antibiyotik tedavisi. Özalp İ, Yurdakök M, Coşkun T (eds). Pediatriye Gelişmeler. 1.Baskı. Ankara: Sinem Ofset; 1999. 270-89.
- 3) Bhutta AZ. Neonatal infections. Current Opinion in Pediatrics 1997; 9: 133-40.
- 4) Yurdakök M. Neonatal sepsis. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2002; 45: 85-99.
- 5) Çelebi S. Hacımustafaoğlu M. Yenidoğan Sepsisi ve Bebek Ölümleri. ANKEM Dergisi 2007; 21: 101-7.
- 6) Edwards MS, Baker CJ. Sepsis in the Newborn. In: Gershon AA, Hotez PJ, Katz SL (eds). Krugman's Infectious Diseases of Children. 11th edition. Philadelphia: Mosby; 2004. 545-61.
- 7) Edwards MS. Postnatal bacterial infectious. In: Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC (eds). Fanaroff & Martin's Neonatal-Perinatal Medicine. Diseases of the Fetus and Infant. 9th edition. St Louis, Missouri: Elsevier Mosby; 2011. 793-829.
- 8) Lawn JE, Cousens S, Zupan J, Lancet Neonatal Survival Steering Team. 4 million neonatal deaths: When? Where? Why? Lancet 2005; 365: 891-900.
- 9) Vergnano S, Sharland M, Kazembe P, Mwansambo C, Heath PT. Neonatal sepsis: an international perspective. Arch Dis Child 2005; 90: 220-4.
- 10) Lawn JE, Kerber K, Enweronu-Laryea C, Cousens S. 3.6 million neonatal deaths-what is progressing and what is not? Semin Perinatol 2010; 34: 371-86.
- 11) Ganatra HA, Stoll BJ, Zaidi AK. International perspective on early-onset neonatal sepsis. Clin Perinatol 2010; 37: 501-23.
- 12) Thaver D, Zaidi AK. Burden of neonatal infections in developing countries: a review of evidence from community-based studies. Pediatr Infect Dis J 2009; 28: 3-9.
- 13) Stoll BJ, Hansen NI, Higgins RD, et al. Very low birth weight preterm infants with early onset neonatal sepsis: the predominance of gram-negative infections continues in the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, 2002-2003. Pediatr Infect Dis J 2005; 24: 635-9.
- 14) Makhoul IR, Sujov P, Smolkin T, Lusky A, Reichman B, Israel Neonatal Network. Pathogen-specific early mortality in very low birth weight infants with late-onset sepsis: a national survey. Clin Infect Dis 2005; 40: 218-24.
- 15) Wynn JL, Levy O. Role of innate host defenses in susceptibility to early-onset neonatal sepsis. Clin Perinatol 2010; 37: 307-37.

- 16) Edmond K, Zaidi A. New approaches to preventing, diagnosing, and treating neonatal sepsis. *PLoS Med* 2010; 7: e1000213.
- 17) Wynn JL, Wong HR. Pathophysiology and treatment of septic shock in neonates. *Clin Perinatol* 2010; 37: 439-79.
- 18) Wattal C, Oberoi JK. Neonatal sepsis. *Indian J Pediatr* 2011; 78: 473-4.
- 19) Gardner SL. Sepsis in the neonate. *Crit Care Nurs Clin North Am* 2009; 21: 121-41.
- 20) Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clin North Am* 2004; 51: 939-59.
- 21) Stoll BJ. Infections of The Neonatal Infant. In: Behrman RE, Kleigman RM, Jenson H (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17th edition. Philadelphia. WB Saunders Company; 2004. 623-40
- 22) Shang S, Chen G, Wu Y, Du L, Zhao Z. Rapid diagnosis of bacterial sepsis with PCR amplification and microarray hybridization in 16S rRNA Gene. *Pediatric Research* 2005; 58: 143-8
- 23) Saez-Llorens X, McCracken GH. Perinatal bacterial diseases. Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ et al (eds). *Text Book of Pediatric Infectious Diseases*. 5th edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 2004. 929-66
- 24) Gordon A, Isaacs D. Late-onset infection and the role of antibiotic prescribing policies. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17: 231-6.
- 25) Weisman LE. Coagulase-negative staphylococcal disease: emerging therapies for the neonatal and pediatric patient. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17: 237-41.
- 26) Bizzarro MJ, Raskind C, Baltimore RS, Gallagher PG. Seventy-five years neonatal sepsis at Yale: 1928-2003. *Pediatrics* 2005; 116: 595-602.
- 27) Jordan JA, Butchko AR, Durso MB. Use of pyrosequencing of 16S rRNA fragments to differentiate between bacteria responsible for neonatal sepsis. *Journal of Molecular Diagnostics* 2005; 7: 105-10
- 28) Turkish Neonatal Society. Nosocomial Infections Study Group. Nosocomial infections in neonatal units in Turkey: epidemiology, problems, unit policies and opinions of healthcare workers. *Turk J Pediatr* 2010; 52: 50-7.
- 29) Osrin D, Vergnano S, Costello A. Serious bacterial infections in newborn infants in developing countries. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17: 217-24.
- 30) Bulut MO, Bulut İK, Büyükkayhan D, et al. Neonatal sepsisli olguların retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*; 2005; 27: 63-8.
- 31) Kaynak Türkmen M, Telli M, Erişen S, Güzünler M, Eyigör M. Neonatal sepsisli olguların değerlendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2010; 11: 15-20.
- 32) Yalaz M, Cetin H, Akisu M, Aydemir S, Tunger A, Kültürsay N. Neonatal nosocomial sepsis in a level-III NICU: evaluation of the causative agents and antimicrobial susceptibilities. *Turk J Pediatr* 2006; 48: 13-8.
- 33) Baş AY, Demirel N, Zenciroglu A, Göl N, Tanir G. Nosocomial blood stream infections in a neonatal intensive care unit in Ankara, Turkey. *Turk J Pediatr* 2010; 52: 464-70.

- 34) Chirico G, Loda C. Laboratory aid to the diagnosis and therapy of infection in the neonate. *Pediatr Rep* 2011; 3: e1.
- 35) Chiesa C, Panero A, Osborn JF, Simonetti AF, Pacifico L. Diagnosis of neonatal sepsis: a clinical and laboratory challenge. *Clin Chem* 2004; 50: 279-87.
- 36) Benitz WE. Adjunct laboratory tests in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis. *Clin Perinatol* 2010; 37: 421-38.
- 37) Berardi A, Lugli L, Rossi C, China MC, Vellani G, et al. Neonatal bacterial meningitis. *Minerva Pediatr* 2010; 62: 51-4.
- 38) Garges HP, Moody MA, Cotten CM, et al. Neonatal meningitis: what is the correlation among cerebrospinal fluid cultures, blood cultures, and cerebrospinal fluid parameters? *Pediatrics* 2006; 117: 1094-1100.
- 39) Gaschignard J, Levy C, Romain O, et al. Neonatal Bacterial Meningitis: 444 Cases in 7 Years. *Pediatr Infect Dis J.* ; 2011; 30: 212-7.
- 40) Chávez-Bueno S, McCracken GH Jr. Bacterial meningitis in children. *Pediatr Clin North Am* 2005; 52: 795-810.
- 41) Newman TB, Puopolo KM, Wi S, Draper D, Escobar GJ. Interpreting complete blood counts soon after birth in newborns at risk for sepsis. *Pediatrics* 2010; 126: 903-9.
- 42) Ng PC, Lam HS. Biomarkers for late-onset neonatal sepsis: cytokines and beyond. *Clin Perinatol* 2010; 37: 599-610.
- 43) Lam HS, Ng PC. Biochemical markers of neonatal sepsis. *Pathology* 2008; 40: 141-48.
- 44) Arnon S, Litmanovitz I. Diagnostic tests in neonatal sepsis. *Curr Opin Infect Dis* 2008; 21: 223-27
- 45) Ng PC, Lam HS. Diagnostic markers for neonatal sepsis. *Curr Opin Pediatr* 2006; 18: 125-31.
- 46) Chiesa C, Natale F, Pascone R, Osborn JF, Pacifico L, Bonci E, De Curtis M. C reactive protein and procalcitonin: reference intervals for preterm and term newborns during the early neonatal period. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 1053-9.
- 47) Hengst JM. The role of C-reactive protein in the evaluation and management of infants with suspected sepsis. *Adv Neonatal Care* 2003; 3: 3-13.
- 48) McWilliam S, Riordan A. How to use: C-reactive protein. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2010; 95: 55-8.
- 49) Köksal N, Harmancı R, Çetinkaya M, Hacımustafaoğlu M. Role of procalcitonin and CRP in diagnosis and follow-up of neonatal sepsis. *The Turkish Journal of Pediatrics* 2007; 49: 21-9
- 50) Rønnestad A, Abrahamsen TG, Gaustad P, Finne PH. C-reactive protein (CRP) response patterns in neonatal septicaemia. *APMIS* 1999; 107: 593-600.
- 51) Benitz WE, Han MY, Madan A, Ramachandra P. Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. *Pediatrics* 1998; 102: E41.
- 52) Yu Z, Liu J, Sun Q, Qiu Y, Han S, Guo X. The accuracy of the procalcitonin test for the diagnosis of neonatal sepsis: a meta-analysis. *Scand J Infect Dis* 2010; 42: 723-33.

- 53) Vouloumanou EK, Plessa E, Karageorgopoulos DE, Mantadakis E, Falagas ME. Serum procalcitonin as a diagnostic marker for neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med* 2011; 37: 747-62.
- 54) Turner D, Hammerman C, Rudensky B, Schlesinger Y, Goia C, Schimmel MS. Procalcitonin in preterm infants during the first few days of life: introducing an age related nomogram. *Arch Dis Child* 2006; 91: 283-6.
- 55) Chiesa C, Pellegrini G, Panero A, et al. C-reactive protein, interleukin-6, and procalcitonin in the immediate postnatal period: influence of illness severity, risk status, antenatal and perinatal complications, and infection. *Clin Chem* 2003; 49: 60-8.
- 56) Chiesa C, Panero A, Rossi N, et al. Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 664-72.
- 57) Verboon-Maciolek MA, Thijsen SF, et al. Inflammatory mediators for the diagnosis and treatment of sepsis in early infancy. *Pediatr Res* 2006; 59: 457-61.
- 58) Resch B, Gusenleitner W, Müller WD. Procalcitonin and interleukin-6 in the diagnosis of early-onset sepsis of the neonate. *Acta Paediatr* 2003; 92: 243-5.
- 59) Çetinkaya M, Özkan H, Köksal N, Çelebi S, Hacımustafaoğlu M. Comparison of serum amyloid A concentrations with those of c reactive protein and follow-up of neonatal sepsis in premature infants. *Journal of Perinatology* 2009; 29, 225-31.
- 60) Morven S. Edwards, Postnatal bacterial infections, In: Avroy A. Fanaroff, Richard J. Martin (eds). *Neonatal-Perinatal Medicine*, 7th edition. St. Louis: Mosby; 2002; 706-18.
- 61) Gomella TL, Cumingham MD, Eyal FG. Neonatology:management, procedures onc all problems. In: Gomella TL, Cunningham MD, Eyal FG (eds). *Diseases and drugs*. 3rd edition. Norwalk: Appleton and Lange; 1994:339-43.
- 62) Behrman RE (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*. 1th edition. Philadelphia: WB Saunders, 1996.
- 63) Gerdes JS. Clinicopathologic approach to the diagnosis of sepsis *Clin Perinatol* 1991; 18: 361-81
- 64) Ng PC, Cheng SH, Chui KM, et al. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule, and C-reactive protein in preterm very low birthweight infants. *Arch Dis Child* 1997; 77: 221-7.
- 65) Procianoy RS, Silveira RC. The role of sample collection timing on interleukin-6 levels in early-onset neonatal sepsis. *J Pediatr (Rio J)* 2004; 80: 407-10.
- 66) Silveira RC, Procianoy RS. Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1beta for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr* 1999; 88: 647-50.
- 67) Schultz C, Temming P, Bucsky P, Göpel W, Strunk T, Härtel C. Immature anti-inflammatory response in neonates. *Clin Exp Immunol* 2004; 135: 130-6.

- 68) Ng PC, Li K, Leung TF, et al. Early prediction of sepsis-induced disseminated intravascular coagulation with interleukin-10, interleukin-6, and RANTES in preterm infants. *Clin Chem* 2006; 52: 1181-9.
- 69) Ng PC, Li K, et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine responses in preterm infants with systemic infections. *Arch Dis Child* 2003; 88: 209-13.
- 70) Franz AR, Bauer K, Schalk A, et al. International IL-8 Study Group. Measurement of interleukin 8 in combination with C-reactive protein reduced unnecessary antibiotic therapy in newborn infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2004; 114: 1-8.
- 71) Horisberger T, Harbarth S, Nadal D, Baenziger O, Fischer JE. G-CSF and IL-8 for early diagnosis of sepsis in neonates and critically ill children – safety and cost effectiveness of a new laboratory prediction model: study protocol of a randomized controlled trial. *Crit Care* 2004; 8: 443-50.
- 72) Franz AR, Sieber S, Pohlandt F, Kron M, Steinbach G. Whole blood interleukin 8 and plasma interleukin 8 levels in newborn infants with suspected bacterial infection. *Acta Paediatr* 2004; 93: 648-53.
- 73) Reinsberg J, Dembinski J, Dorn C, Behrendt D, Bartmann P, van Der Ven H. Determination of total interleukin-8 in whole blood after cell lysis. *Clin Chem* 2000; 46: 1387-94.
- 74) Orlikowsky TW, Neunhoeffler F, Goelz R, et al. Evaluation of IL-8-concentrations in plasma and lysed EDTA-blood in healthy neonates and those with suspected early onset bacterial infection. *Pediatr Res* 2004; 56: 804-9.
- 75) Fotopoulos S, Mouchtouri A, Xanthou G, Lipsou N, Petrakou E, Xanthou M. Inflammatory chemokine expression in the peripheral blood of neonates with perinatal asphyxia and perinatal or nosocomial infections. *Acta Paediatr* 2005; 94: 800-6.
- 76) Chaves F, Tierno B, Xu D. Neutrophil volume distribution width: a new automated hematologic parameter for acute infection. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130: 378-80.
- 77) Pavcnik-Arnol M, Hojker S, Derganc M. Lipopolysaccharide-binding protein, lipopolysaccharide, and soluble CD14 in sepsis of critically ill neonates and children. *Intensive Care Med* 2007; 1025-32.
- 78) Pavcnik-Arnol M, Hojker S, Derganc M. Lipopolysaccharide-binding protein in critically ill neonates and children with suspected infection: comparison with procalcitonin, interleukin-6, and C-reactive protein. *Intensive Care Med* 2004. 1454-60.
- 79) Turunen R, Andersson S, Nupponen I, Kautiainen H, Siitonen S, Repo H. Increased CD11b-density on circulating phagocytes as an early sign of late-onset sepsis in extremely low-birth-weight infants. *Pediatr Res* 2005; 57: 270-5.
- 80) Ng PC, Li G, Chui KM, et al. Neutrophil CD64 is a sensitive diagnostic marker for early-onset neonatal infection. *Pediatr Res* 2004; 56: 796-803.
- 81) Ng PC, Li K, Wong RP, Chui KM, Wong E, Fok TF. Neutrophil CD64 expression: a sensitive diagnostic marker for late-onset nosocomial infection in very low birthweight infants. *Pediatr Res* 2002; 51: 296-303.

- 82) Tollner U. Early diagnosis of septicemia in the newborn. *Clinical studies and sepsis score*. *Eur J Pediatr* 1982; 138: 331-7.
- 83) Oran O, Erdem G, Tekinalp G, Yurdakok M, Yiğit Ş. Yenidoğan bakımında Hacettepe uygulamaları. Ankara: Güneş Kitabevi, 2001. 48.
- 84) Özalp İ, Yurdakok M, Coşkun T. Neonatal sepsiste Antibiyotik tedavisi: *Pediatride gelişmeler*. 1.baskı. Ozalp İ, Yurdakok M, Coşkun T. Sinem ofset. Ankara, 1999. 270-90
- 85) Mussap M, Molinari MP, Senno E et al. New diagnostic tools for neonatal sepsis: the role of a real-time polymerase chain reaction for the early detection and identification of bacterial and fungal species in blood samples. *J Chemother* 2007; 19: 31-4.
- 86) Peters RP, Savelkoul PH, Simoons-Smit AM, Danner SA, Vandenbroucke-Grauls CM, van Agtmael MA. Faster identification of pathogens in positive blood cultures by fluorescence in situ hybridization in routine practice. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 119-23.
- 87) Rantakokko-Jalava K, Jalava J. Optimal DNA isolation method for detection of bacteria in clinical specimens by broad-range PCR. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4211-7.
- 88) Petrakou E, Mouchtouri A, Levi E, Lipsou N, Xanthou M, Fotopoulos S. Interleukin-8 and monocyte chemotactic protein-1 mRNA expression in perinatally infected and asphyxiated preterm neonates. *Neonatology* 2007; 91: 107-13.
- 89) Haque KN. Definitions of bloodstream infection in the newborn. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6: 45-9.
- 90) Ohlin A, Bäckman A, Björkqvist M, Mölling P, Jurstrand M, Schollin J. Real-time PCR of the 16S-rRNA gene in the diagnosis of neonatal bacteraemia. *Acta Paediatrica* 2008; 97:1376-80.
- 91) Pammi M, Flores A, Leeflang M, Versalovic J. Molecular assays in the diagnosis of neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Pediatrics* 2011; 128: e973-e985.
- 92) Birben, E. Polimeraz zincir reaksiyonu. *Astım Allerji İmmünoloji* 2006; 4: 92-4.
- 93) Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1986; 51: 263-73.
- 94) Syvänen AC, Bengtström M, Tenhunen J, Söderlund H. Quantification of polymerase chain reaction products by affinity-based hybrid collection. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 11327-38.
- 95) Lo YMD. *Methods in molecular medicine, clinical applications of PCR*. Springer 1998; 3: 27-8.
- 96) Wong ML, Medrano JF. Real-time PCR for mRNA quantitation. *Biotechniques* 2005; 39: 75-85.
- 97) Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology* 1992; 10: 413-7.
- 98) Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, Watson R. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology* 1993; 11: 1026-30.

- 99) Van der Velden VH, Hochhaus A, Cazzaniga G, Szczepanski T, Gabert J, van Dongen JJ. Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: principles, approaches, and laboratory aspects. *Leukemia* 2003; 17: 1013-34.
- 100) Washington JA. and Ilstrup DM. Blood cultures: issues and controversies. *Rev Infect Dis* 1986; 8: 792-802.
- 101) Mishra UK, Jacobs SE, Doyle LW, Garland SM. Newer approaches to the diagnosis of early onset neonatal sepsis. *Arch Dis Child* 2006; 91: 208-12.
- 102) Reesink HW, Mohammadi T, Pietersz RN, Savelkoul PH. Rapid screening by real-time 16S rDNA PCR for bacterial contamination of blood products. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46: 954-62.
- 103) Sachse K, Frey J. *Methods in molecular biology - PCR Detection of Microbial Pathogens*. Humana Press Inc 2003; 216: 4-9.
- 104) Jordan JA, Durso MB. Comparison of 16S rRNA gene PCR and BACTEC 9240 for detection of neonatal bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology* 2000;38: 2574-8.
- 105) Fujimori M, Hisata K, Nagata S, et al. Efficacy of bacterial ribosomal RNA-targeted reverse transcription-quantitative PCR for detecting neonatal sepsis: a case control study. *BMC Pediatrics* 2010; 10:53: 1-6.
- 106) Jordan JA, Durso MB. Real-time polymerase chain reaction for detecting bacterial DNA directly from blood of neonates being evaluated for sepsis. *Journal of Molecular Diagnostics* 2005; 7: 575-81.
- 107) Reirer – Nielsen T, Farstad T, Nakstad B, Lauvrak V, Steinback M. Comparison of broad range 16S rDNA PCR and conventional blood culture for diagnosis of sepsis in the newborn: a case control study. *BMC Pediatrics* 2009; 9: 5: 1-8.
- 108) Ohlin A, Bäckman A, Ewald U, Schollin J, Björkqvist M. Diagnosis of neonatal sepsis by broad-range 16S real-time polymerase chain reaction. *Neonatology* 2012; 101: 241-6.
- 109) Ohlsson A, Lacy JB. Intravenous immunoglobulin for preventing infection in preterm and/or low-birth-weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; 1: CD000361.
- 110) Polin RA, Parravicini E, Regan JA, Taeusch HW. Bacterial sepsis and meningitis. In: Taeusch HW, Ballard RA, Gleason CA (eds). *Avery's Diseases of the Newborn*. 8th edition. Philadelphia: Elsevier Inc. ; 2005. 551-77.
- 111) Mohan P, Abrams SA. Oral lactoferrin for the treatment of sepsis and necrotizing enterocolitis in neonates. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; 1: CD007138.
- 112) Schuchat A, Whitney C, Zangwill K. Neonatal bacterial sepsis in a neonatal intensive care unit: a 5 year analysis. *J Paediatr Child Health* 1996; 45: 1-24
- 113) Kermorvant-Duchemin E, Laborie S, Rabilloud M, Lapillonne A, Claris O. Outcome and prognostic factors in neonates with septic shock. *Pediatr Crit Care Med* 2008; 9: 186-91.
- 114) Stoll BJ, Hansen NI, Adams-Chapman I, et al. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network.

- Neurodevelopmental and growth impairment among extremely low-birth-weight infants with neonatal infection. *JAMA* 2004. 2357-65.
- 115) Laforgia N, Coppola B, Carbone R, Grassi A, Mautone A, Iolascon A. Rapid detection of neonatal sepsis using polymerase chain reaction. *Acta Paediatr* 1997; 86: 1097-9.
- 116) Shang S, Chen Z, Yu X. Detection of bacterial DNA by PCR and reverse hybridization in the 16S rRNA gene with particular reference to neonatal septicemia. *Acta Paediatr* 2001; 90: 179-83
- 117) Ashok K. Yadav, Wilson CG, Prasad PL. and Menon PK. Polymerase chain reaction in rapid diagnosis of neonatal sepsis. *Indian Paediatr.* ; 2005; 42: 681-4
- 118) Li-Hua Chen, Qun-Jun Duan, Mei-Ting Cai, Yi-Dong Wu, Shi-Qiang Shang. Rapid diagnosis of sepsis and bacterial meningitis in children with real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction amplification in the bacterial 16S rRNA gene. *Clinical Paediatr* 2009; 48: 641-7
- 119) Gitto E, Karbownik M, Reiter JR, Tan XD. Effects of melatonin treatment in septic newborns. *Ped Research* 2001; 50: 756-60.
- 120) Rodwell RL, Leslie AL, Tudehope DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematological scoring system. *J Paediatr* 1988; 112: 761-7.
- 121) Topuzoğlu S. Yenidoğan sepsisinin tanı ve izleminde C-Reaktif protein ile prokalsitonin değerlerinin karşılaştırılması (Uzmanlık Tezi). İstanbul: Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pediatri Kliniği, 2009.
- 122) Ovalı F. Bakteriyel enfeksiyonlar. Dağoğlu T, editör. Neonatoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2000. 657-73.
- 123) Yalaz M, Arslanoğlu S, Çetin H, et al. Üçüncü basamak yoğun bakım merkezinde kanıtlanmış nozokomiyal sepsis etkenlerinin değerlendirilmesi: İki yıllık analiz. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2004; 5: 5-9
- 124) Belet N, Küçüködük Ş, Sezer T, Yıldırım A, Tanyeri B. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi yenidoğan ünitesinde izlenen nozokomiyal sepsis olguları. *Türk Pediatri Arşivi* 2000; 35: 256-60
- 125) Taş DB, Can D, Genel F, Atlıhan F, Oral R. Prematüre servisinde sepsis etkenleri ve kültür antibiyogram sonuçlarının değerlendirilmesi. *Ege Pediatri Bülteni* 2000; 7: 15-23.
- 126) Kellogg JA, Ferrentino FL, Goodstein MH, Liss K, Shapiro SL, Bankert DA. Frequency of low level bacteremia in infants from birth to two months of age. *Paediatr Infect Dis* 1997; 1: 51-8.
- 127) Greisen K, Loeffelholz A, Purohit A, Leong D. PCR primers and probes for the 16S rRNA gene of most species of pathogenic bacteria, including bacteria found in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 335-51.
- 128) Jordan JA. Identification of human parvovirus B19 infection in idiopathic nonimmune hydrops fetalis. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 37-42.
- 129) Jordan JA, Durso MB. Rapid speciation of the 5 most medically relevant candida species using PCR amplification and a microtiter plate-based detection system. *Mol Diagn* 1996; 1: 51-8.
- 130) McCabe KM, Khan G, Zhang YH, Mason EO, McCabe ER. Amplification of bacterial DNA using highly conserved sequences: automated analysis and potential for molecular triage of sepsis. *Pediatrics* 1995; 95: 165-9.

- 131) Witkin SS, Inglis SR, Polanezky M. Detection of chlamydia trachomatis and trichomonas vaginalis by polymerase chain reaction in introital specimens from pregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 165-7.
- 132) Pou AM, Rimell FL, Jordan JA, et al. Adult respiratory papillomatosis: human papillomavirus type and viral coinfections as predictors of prognosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995; 104: 758-62.
- 133) Jean G, Antoine B, Loic P. Biochemical markers of neonatal sepsis. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 130-5.
- 134) Jaye LD, Waites BK. Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. *Pediatr Infect Dis* ; 1997; 16: 735-47.
- 135) Sann L, Bienvenu F, Bienvenu J, Bourgeois J, Bethenod M. Evolution of serum prealbumin, CRP and orosomucoid in neonates with bacterial infection. *J Pediatr* 1984; 105: 977-81.
- 136) Ashraf RN, Jalil F, Zaman S, et al. Breast feeding and protection against neonatal sepsis in a high risk population. *Arch Dis Child* 1991; 66: 488-90

KISALTMALAR

DDA : Düşük doğum ağırlığı
ÇDDA : Çok düşük doğum ağırlığı
GBS : Grup B streptococcus
DİK : Dissemine intravasküler koagülasyon
KKH : Konjenital kalp hastalığı
RDS : Respiratuar distres sendromu
GIS : Gastrointestinal sistem
PPH : Persistan pulmoner hipertansiyon
HİE : Hipoksik iskemik ensefalopati
BOS : Beyin omurilik sıvısı
PMN : Polimorfonükleer lökosit
ANS : Mutlak nötrofil sayısı
İ/T : İmmatür / total polimorfonükleer lökosit oranı
ESH : Eritrosit sedimantasyon hızı
CRP : C-reaktif protein
SAA : "Serum amyloid A"
PCT : Prokalsitonin
EMR : Erken membran rüptürü
PCR : "Polymerase chain reaction"
FISH : "Florescence in situ hybridisation"
Th-1 : T helper 1
Th-2 : T helper 2
G-CSF : "Granulocyte colony stimulating factor"
GRO- α : "Growth-related oncogene- α "
IFN- γ : İnterferon-gama
IP-10 : "İnterferon- γ -inducible protein-10"
IL-1 β : İnterlökin-1beta
IL-6 : İnterlökin-6
IL-8 : İnterlökin-8
IL-10 : İnterlökin-10
LBP : Lipopolisakkarit bağlayıcı protein
MCP-1 : "Monocyte chemoattractant protein-1"
MIG : "Monokine induced by interferon- γ "
mg/dl : miligram / desilitre
ng/ml : nanogram / mililitre
pg/ml : pikogram / mililitre
CFU : Coloni forming unit
RANTES : "Regulated upon activation normal T cells expressed and secreted"
TGF- β : Transforming growth factor
TNF- α : "Tumor necrosing factor- α "
rRNA : Ribozmal ribonükleik asit
IVIG : İntravasküler immunglobulin
PPD: Pozitif prediktif değer

NPD: Negatif prediktif değer
Bkz: Bakınız

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince üzerimde büyük emekleri olan, bilgisini ve desteğini her zaman öğrencilerine gösteren, tez danışman hocam, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim dalı, Neonatoloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nilgün Köksal'a, asistanlığım sırasında eğitimime katkı sağlayan, destek ve yardımlarını her zaman hissettiğim Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Betül Sevinir'e, asistanlığım süresince bilgilerini benimle paylaşan diğer değerli öğretim üyelerine, tez çalışmamın başından itibaren bana desteğini eksik etmeyen Doç. Dr. Merih Çetinkaya'ya, Doç. Dr. Hilal Özkan'a, Doç. Dr. Serdar Ceylaner'e, Uzm. Dr. Taner Özgür'e, asistanlığım süresince can dostlarım olan Uzm. Dr. Muzaffer Ocak, Uzm.Dr. Ramazan Özdemir, Uzm.Dr. Şahin Sincar, Uzm.Dr. Melek Özdenir ve Uzm.Dr. Hanife Hekim'e, Uzm. Dr. Mustafa Özel'e, Dr. Zeynep Gizem Ergun'a, İstatistik Fakültesinde görevli olan Dr. Deniz Sığırlı'ya, aramızdan ayrılan veya hala fakültemizde çalışmaya devam eden tüm uzman doktorlara, asistanlığım süresince birlikte çalıştığım, nöbet tuttuğum, bilgilerini, dostluklarını ve içtenliklerini benimle paylaşan, uzmanlıklarını alan veya hala fakültemizde çalışan tüm asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz hemşirelerine ve yardımcı personeline teşekkür ederim.

Asistanlığım süresi boyunca ve tez hazırlama döneminde sevgileri ve sabırları ile bana büyük destek veren ve beni yetiştiren Anne'me, Anneanne'me ve tüm aileme teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

15 Ocak 1978 yılında Muğla'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi sırası ile Muğla Dumlupınar İlkokulu, Muğla Merkez Ortaokulu ve Muğla Turgut Reis Lisesi'nde tamamladım. 1996-2002 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde tıp eğitimimi tamamladıktan sonra, 2004 yılında Muğla Yeşilyurt Sağlık Ocağında pratisyen hekim olarak göreve başladım. 2004-2006 yılları arasında Muğla İl Sağlık Müdürlüğü Ruh Sağlığı Şubesi Psikolojik Danışmanlık Merkezi'nde çalıştım. 2005-2006 yılları arasında askeri görevimi İzmir'de sağlık kısım amiri olarak yaptım. 2007 yılından itibaren asistan doktor olarak Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda ihtisasıma devam etmekteyim.