



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KARBAPENEM DİRENÇLİ
ACINETOBACTER BAUMANNII SEPSİSİNDE ADRENAL
TUTULUMUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Esmâ EREN

KAYSERİ-2018



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL KARBAPENEM DİRENÇLİ
***ACINETOBACTER BAUMANNII* SEPSİSİNDE ADRENAL**
TUTULUMUN DEĞERLENDİRİLMESİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Danışman
Prof. Dr. Mehmet DOĞANAY
Dr. Esmâ EREN

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: TTU-2017-6921).

KAYSERİ-2018

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamızın fikir aşamasından sonucuna kadar büyük desteğini esirgemeyen ve benimle tecrübelerini paylaşan, değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet DOĞANAY hocama,

Asistanlık süreci boyunca her konuda destek olan ve tez çalışmamızın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen bölüm başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Emine ALP MEŞE hocama,

Çalışmamızın patoloji kısmında yardımcı olan Prof. Dr. Olgun KONTAŞ hocama

Deneyisel çalışma ve ELİZA çalışması için yardımcı olan Doç. Dr. Gökçen DİNÇ ve Öğr. Gör. Salman Shaheer AHMED hocalarıma,

Başta akademik olmak üzere her alanda destek olan Doç. Dr. Ayşegül ULU KILIÇ hocama,

İstatistik çalışması için yardımcı olan Hemşire Fatma CEVAHİR'e,

Güler yüzleri ve manevi destekleri için Enfeksiyon Kontrol Kurulu çalışanlarına,

Özellikle tez çalışması aşamasında elinden gelen her türlü desteği veren Uzm. Dr. Zeynep TÜRE ve fiziksel desteğini esirgemeyen asistan arkadaşım Dr. Feyza İZCİ'ye

Birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma,

Tez çalışmasını yürütmemde yardımlarını eksik etmeyen DEKAM yönetimi ve çalışanlarına,

Uzmanlık eğitimimin çoğunluğunun geçtiği, çalışma arkadaşı olmakla birlikte zaman zaman bir aile kadar yakın olduğum Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji klinik ve poliklinik çalışanlarına,

Hayatımın her alanında sonsuz ve koşulsuz desteği için sevgili eşim Davut EREN'e,

Tez çalışma ve yazma sürecinde ihmal etmek durumunda kaldığım kızım Halime Şeyma EREN'e

Maddi ve manevi desteklerini asla esirgemeyen, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, hayattaki en büyük desteğim olan annem Havva Kıymet, babam Semri ve kardeşlerim Halime ve Beyzanur ERYILMAZ' a sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Esmâ EREN

Şubat 2018, KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Adrenal Bez ve Fonksiyonları.....	3
2.2. Enfeksiyonlarda Adrenal Bez Tutulumu.....	4
2.3. Sepsiste Adrenal Bez Tutulumu ve Histopatolojik Değişiklikler	5
2.4. Sepsis.....	5
2.4.1. Tarihçe	5
2.4.2. Tanımlar	6
2.4.3. Epidemiyoloji	9
2.4.4. Etiyoloji	10
2.4.4.1. <i>Acinetobacter baumannii</i>	11
2.4.4.2. <i>Escherichia Coli</i>	15
2.4.5. Patofizyoloji	19
2.4.5.1. Konak Yanıtı.....	19
2.4.5.2. Normal Konakta Enflamatuvar Yanıt	22
2.4.5.3. Hasarlı Konakta Enflamatuvar Yanıt.....	22
2.4.6. Klinik.....	23
2.4.7. Tedavi	25
2.5. Deneysel Sepsis Modelleri	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Deney Hayvanı.....	30
3.2. Deneyde Kullanılan Bakteri Suşları.....	31
3.3. Bakteri Süspansiyonunun Hazırlanması	31
3.4. Sepsis Oluşturan Enfeksiyon Dozunun (inokulum dozu) Belirlenmesi.....	31

3.5. İn vivo çalışma	32
3.6. Histopatoloji.....	32
3.7. Sitokin Analizi	33
3.8. İstatistiksel Analiz.....	33
4. BULGULAR.....	35
4.1. Histopatolojik Değerlendirme.....	35
4.2. Mikrobiyolojik Çalışma	39
4.3. Hormon Düzeyi Ölçümü	40
4.4. Sitokin Çalışması	41
4.4.1. TNF- α	41
4.4.2. IL-6	42
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇLAR.....	48
KAYNAKLAR	49
EKLER	60
TEZ ONAY SAYFASI.....	64

KISALTMALAR

ACCP	: American College of Chest Physicians
ACTH	: Adrenocorticotropic hormone
ARDS	: Acute Respiratuar Distress Syndrome
ATS	: American Thoracic Society
BCR	: B Cell Reseptor
CRH	: Corticotropine Releasing Hormone
ÇDAB	: Çoklu İlaça Dirençli <i>Acinetobacter baumannii</i>
DAMP	: Damage Associated Molecular Pattern
DIC	: Dissemine Intravascular Coagulation
DM	: Diabetes Mellitus
ECCO2R	: Extracorporeal CO2 Removal System
ECMO	: Extracorporeal membrane oxygenation
EHEC	: Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	: Enteroinvasive <i>Escherichia coli</i>
EP	: Efflux pomp
EPEC	: Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
ESICM	: European Society of Intensive Medicine
ETEC	: Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
HHA	: Hipotalomo-Hipofizer-Aks
IFN	: Interferon
IL	: Interleukin
İMVİC	: Indole, Methyl Red (MR), Voges-Proskauer (VP), Citrate
İYE	: İdrar Yolu Enfeksiyonu
kob	: Koloni oluşturan birim
KRAB	: Karbapeneme dirençli <i>Acinetobacter baumannii</i>
KSAB	: Karbapeneme duyarlı <i>Acinetobacter baumannii</i>

LPS	: Lipopolisakkarit
LT	: Labil Toksin
MODS	: Multiple Organ Dysfunction Syndrome
NK	: Naturel Killer
PAF	: Platelet Activated Factor
PAMP	: Patogen-Associated Molecular Patterns
PICS	: Persistent Inflammation, Immunosuppression, and Catabolism Syndrome
PL	: Phospolipase
SCCM	: Society of Critical Care Medicine
SIRS	: Systemic Inflammatory Response Syndrome:
SOFA	: Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessment
ST	: Stabil toksin
TNF	: Tumor Necrosis Factor
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSI	: Triple Sugar Iron Agar
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.	Sistemik Enflamatuvar Yanıt Sendromu Tanı Kriterleri	6
Tablo 2.	Sepsis için tanısal kriterler	7
Tablo 3.	Sequential (Sepsis-Related) Organ Failure assessment Score	8
Tablo 4.	Deney grupları ve deneyin yapılışı	32
Tablo 5.	Grupların Adrenal Bezde Toplam Konjesyon Evre Ortalamaları.....	35
Tablo 6.	Gruplarda adrenal bezdeki histopatolojik değişikliğin tabakalara göre değerlendirilmesi ve karşılaştırılması Deneklerin Histopatolojik Tutulum Sayıları ve Evre Ortalama Sonuçları.....	38
Tablo 7.	Adrenal dokusunda bakteriyel yükün gruplara göre karşılaştırılması	40
Tablo 8.	Grupların serum kortikosteron düzeyi ortalamalarının karşılaştırılması	41
Tablo 9.	Grupların serum TNF - α düzeyi ortalamalarının karşılaştırılması.....	42
Tablo 10.	Grupların serum IL- 6 sitokin düzeyi ortalamalarının karşılaştırılması.....	42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Histopatolojik Değerlendirmeden Görüntüler.....	36
Şekil 2.	Gruplara göre adrenal bezde görülen konjesyonun şiddetinin karşılaştırılması	37
Şekil 3.	Gruplarda Adrenal Bez Tabakalarında Gözlenen Histopatolojik Değişikliklerin Evreleme Ortalamalarına Göre Karşılaştırılması.....	39
Şekil 4.	Adrenal dokusunda bakteriyel yükün gruplara göre karşılaştırılması	40
Şekil 5.	Grupların kortikosteron düzeylerinin karşılaştırılması	41
Şekil 6.	Grupların serum TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması.....	42
Şekil 7.	Grupların serum IL- 6 sitokin düzeylerinin karşılaştırılması.....	43

ÖZET

Giriş ve Amaç: Sepsis ve septik şok, günümüzde yoğun bakımlarda en fazla mortaliteye neden olan durumlardır. Gram negatif bakteriyel sepsislerde adrenal fonksiyonların etkilendiği ve hastanın klinik seyrini olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Çoklu antimikrobiyale dirençli *Acinetobacter baumannii* sepsisinde adrenal tutulumun hangi düzeyde olduğu konusunda herhangi bir bilgi yoktur. Bu nedenle çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* (ÇDAB) sepsisinde enflamasyonun ve adrenal tutulumun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu amaca ulaşmak için; karbapeneme duyarlı ve dirençli *A. baumannii* ve *Escherichia coli*, türleri ile fare sepsis modeli oluşturuldu. Deneyde kullanılacak fareler Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nden temin edildi ve çalışma aynı merkezde yapıldı. Her bir gruba 15 fare olmak üzere dört grupta 60 fare ile çalışma yapıldı. Gruplar; i) karbapeneme duyarlı *A. baumannii* (KSAB), ii) karbapeneme dirençli *A. baumannii* (KRAB), iii) *Escherichia coli* ve iv) kontrol grubu olarak belirlendi. Bakteri inokülasyonundan 72 saat sonra fareler anestezi altında sakrifiye edilecek, her bir fareden sitokinler için intrakardiyak kan alındı ve santrifüj edilerek -20 C'de çalışma gününe kadar saklandı. Ayrıca her iki adrenal bez diseke edilerek çıkarıldı sağ adrenal bez 0,6 ml SF içinde homojenize edilerek kültüre edildi ve koloni sayıları hesaplandı. Sol adrenal bez ise histopatolojik çalışma için %10 formol içine konuldu. Histopatolojik çalışma Patoloji laboratuvarında yapıldı. Karbapeneme duyarlı ve dirençli *A. baumannii* ile *E.coli* sepsisinin adrenal fonksiyonlar ve sitokin düzeyleri üzerine etkileri karşılaştırıldı ve karbapeneme dirençli *A.baumannii* sepsisinde enflamasyon ve adrenal fonksiyonlardaki farklar ortaya konuldu. Çalışma Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Karar no:15/93).

Bulgular: Adrenal bezdeki konjesyon değerlendirildiğinde, tüm sepsis gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla konjesyon bulundu. Grupların birbiri ile karşılaştırılmasında ise, *E.coli* grubunda, KSAB ve KRAB gruplarına göre konjesyon düzeyi anlamlı derecede fazla idi. KSAB grubunda da konjesyon, KRAB'a göre daha fazla olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bakteriyel yük; *E.coli* grubunda, KRAB ve KSAB grubuna göre daha fazla saptandı. En düşük kortikosteron seviyesi *E. coli* grubunda görüldü ve KRAB grubunda da KSAB grubuna

göre daha düşük kortikosteron düzeyi ölçüldü. TNF alfa seviyesi KRAB ve *E. coli* grubunda en yüksek idi ve kontrol grubuna göre fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Sepsis gruplarının üçünde de kontrol grubundan daha yüksek seviyede IL-6 düzeyi tespit edildi; istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, KRAB grubunda IL-6 düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu.

Sonuç: KRAB sepsisinde, virölansı yüksek olan *E. coli* sepsisine benzer adrenal tutulum ve inflamatuvar reaksiyonlar izlenmektedir. Buradaki bulgular, ileride yapılacak klinik çalışmalara ışık tutacaktır.

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: TTU-2017-6921).

ABSTRACT

Background: In the last years, incidence of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* sepsis is increasing with high mortality. However, it is not clear whether this is due to inadequate antimicrobial choice or a more severe clinical course. The aim of this study is to evaluate the inflammation and adrenal involvement in the carbapenem resistant *A. baumannii* experimental mouse model sepsis.

Method: Balb/c male mice, aged 20-24 weeks weighing 30-40 g were used. Animals were randomised into control and three sepsis groups (*A. baumannii* susceptible to carbapenem-CSAB-, *A. baumannii* resistant to carbapenem-CRAB-, *Escherichia coli*). Sixty mice were included in this study and each group had 15 mice. Mice were sacrificed, 72 hours after bacterial inoculation and intra cardiac blood was taken from each mouse for cytokines and corticosterone. In addition, both adrenal glands were dissected and right adrenal gland was cultured for bacterial colony counts. The left adrenal gland was used for histopathological study. The histopathological changes and bacterial counts in adrenal and cytokine and corticosterone levels were compared between the control and study groups. Data were presented as mean $\pm$ SD. A *P*-value of 0.05 was considered significant. This study was approved by the Local Ethical Committee for Animal Studies of Erciyes University (No.5/93).

Results: The adrenal gland congestion was significantly severe in all the sepsis groups than control group. In the comparison of groups, congestion was significantly severe in the *E. coli* group than in CSAB and CRAB groups. Furthermore, bacterial load was higher in *E. coli* than CRAB and CSAB group. The lowest level of corticosterone was observed in the *E. coli* group and the level of corticosterone in the CRAB group was lower than in the CSAB group. TNF alpha level was highest in CRAB and *E. coli* group and difference was statistically significant than control group. Although, IL-6 level in CRAB group was significantly higher than control group.

Conclusion: In CRAB sepsis, the level of corticosterone and the inflammatory cytokine response are similar to *E. coli* sepsis, however severe than CSAB. These findings will be highlighted with future clinical trials. This study was supported by Erciyes University Scientific Research Unit (Project No: TTU-2017-6921).

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis, tüm organ ve sistemleri etkileyen, endojen mediyatörlerin aracılık ettiği, fizyolojik ve biyokimyasal anormallikler gösteren, mortalitesi oldukça yüksek, sistemik enflamatuvar bir klinik tablodur (1).

Dünyada her yıl milyonlarca hasta sepsisten etkilenmekte ve bu hastaların dörtte birinden fazlası ölümle sonuçlandığı belirtilmektedir. Çoklu organ yetmezliklerinin en önde gelen nedenleri arasında sepsis bulunmaktadır. Günümüzde sepsis en sık yoğun bakım ünitelerine görülmekte ve yoğun bakım ünitelerinde takip edilen hastaların en sık ölüm nedenleri arasında olduğu belirtilmektedir (2).

Sepsis patofizyolojisi konusunda son yıllarda yapılan yoğun çalışmalara rağmen, henüz bu klinik tablonun patofizyolojisi tamamen açıklığa kavuşturulamamıştır. Patofizyoloji konusunda karanlık kalan noktalar tanı ve tedavi konusunda birçok bilinmeyenlerin olduğunu ortaya koymaktadır. Tıp teknolojisinde ve hasta bakımında büyük ilerlemeler ve çok sayıda klinik çalışmalara rağmen, sepsis tanısında altın standart tanı yöntemi olmadığı gibi, standart bir tedaviden de bahsetmek zordur. Bu yüzden sepsis mortalitesi hala yüksek seyretmektedir (3,4).

Sepsis patogenezinde rol oynayan temel olaylar; enflamatuvar yolağın hiperaktivasyonu, koagülasyon sisteminin bozulması, vasküler permeabilitenin artması ve ektravazasyon sonucu hemodinaminin bozulması olarak ifade edilmektedir (5). Yoğun bakım ünitelerinde, sepsis olgularından izole edilen mikroorganizmalar sıklık oranları, ülkelere, coğrafik bölgelere ve hastanelere göre değişmektedir. *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, barsak bakterileri ve asinetobakterler en sık izole edilen bakterilerdir. Son yıllarda antimikrobiyal tedavide en önemli sorun; dirençli bakteriyel enfeksiyonların tedavisidir. Günümüzde karbapenem dirençli *Acinetobacter*

baumannii, *Escherichia coli* ve *P.aeruginosa* sepsis olgularında antibiyotik seçeneği oldukça sınırlı olup, ölüm oranı da daha yüksek olduğu gözlenmektedir (6).

Son on yıl içerisinde Hastanemiz YBU'lerinde hastaların kan ve solunum materyalleri kültürlerinde en sık izole edilen bakteri *A.baumannii*'dir. Bu izolatların çoğunluğunu karbapeneme dirençli *A.baumannii* suşlar oluşturmaktadır (7). Bu izolatların bir kısmının da kolistine dirençli oldukları ve bu direnç oranında zaman içindeki artışları endişe ile takip etmekteyiz.

Sepsis, birçok sistemi tutan, organlarda perfüzyon bozukluğuna yol açan, organ yetmezliği, şok ve ölüme kadar giden yaygın enflamatuvar bir hastalıktır. Bakteriyel antijen ve toksinlerin direk etkileri veya indirek etkileri enflamasyonu başlatmaktadır, sitokin salınımı, endotel permeabilitesinin bozulması, koagülasyon yolağının aktive olması gibi birçok patofizyolojik aktivasyon sonucu organlarda perfüzyon bozukluğu, hipoksi, ödem ve nekroza kadar giden patofizyolojik olaylar gelişir. Bu olaylar da organ fonksiyon bozukluğu ve yetmezliğine neden olur. En sık karşılaşılan organ fonksiyon bozukluğu ve yetmezliği; santral sinir sistemi, akciğer, böbrek, karaciğer ve hemopoetik sistemlerde görülür (8). Ağır enfeksiyonlarda (menengokoksemi, sepsis gibi) hipofiz-adrenal aks ve adrenal bezler de etkilenmektedir. Daha önceki yaptığımız çalışmalara göre; gram negatif bakteriyel sepsislerde, gram pozitif bakteriyel sepsislere göre göreceli olarak daha fazla adrenal yetersizliğin geliştiği gözlenmiştir (9). Günümüzde, YBU'lerinde ağır sepsislerde kortikosteroid verilmesi hala açıklığa kavuşmamıştır, olay tartışmalı olarak devam etmektedir. Diğer bir konu ise sepsisli hastalarda, adrenal yetersizliğinin ortaya konulması pratik olarak oldukça zordur.

Bu çalışmanın amacı; deneysel karbapeneme dirençli *A.baumannii* sepsisinde adrenal tutulumunun olup olmadığı, adrenal fonksiyonların etkilenip etkilenmediği, eğer adrenal etkilenimi söz konusu ise duyarlı suşlarla oluşan sepsise göre herhangi bir farklılığın olup olmadığının araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Adrenal Bez ve Fonksiyonları

Adrenal bezler, retroperitoneal alanda, onikinci torakal vertebra ve birinci lomber vertebranın lateralinde yer alır. Böbreklerin üst kısmında, posteromedialinde bulunurlar. Erişkinlerde her biri yaklaşık 8-10 gr ağırlığındadır. Şekilleri piramit şeklini andırmaktadır ve 4-6 cm uzunluğunda ve yaklaşık 1 cm kalınlığındadır. Dışta korteks ve iç kısımda medulla olmak üzere iki bölümden oluşur. Korteks, histolojik açıdan zona glomeruloza, zona fasikulata ve medulayı doğrudan çevreleyen zona retikularis olarak ayrılmış üç birim içerir. Bu bölgeler steroid hormon üretiminde farklı roller oynamaktadır (10).

Zona glomeruloza tabakasında başlıca aldosteron olmak üzere mineralokortikoidler ve zona fasikulatada glukokortikoidler; kortizol, kortikosteron ve deoksikortikosteron üretilmektedir. Zona retikulariste ise androjen ve östrojen üretilmektedir (10). Farelerde zona retikularis zona fasikulatadan her zaman ayırt edilememektedir. Memelilerde kortizol, adrenal bezin ürettiği başlıca glukokortikoiddir ancak farelerde 17 α -hidroksilaz eksikliği nedeni ile kortizol üretilemez ve başlıca glukokortikoid **kortikosterondur** (11). Medulla bölümünden ise katekolaminler salgılanır. Adrenal bezin venöz drenajı sınırlıdır ve stres durumunda artmış arteriyel akım nedeni ile adrenal bezin boyutunda artma görülebilir.

Sepsis, travma gibi vücutta stresin arttığı durumlarda, stres cevabını üç ana sistem belirlemektedir. Bu sistemler hipotalamohipofizoadrenal aks (HHA), otonom sinir sistemi ve immun sistemdir (12).

Hipotalamohipofizoadrenal aks çerçevesinde, stres ile gelen nöroendokrin uyarı sonucu hipotalamustan kortikotropin releasing hormon (CRH) salgınır ve bu uyarı ile

adrenokortikotropik hormon (ACTH) seviyesi artar. Adrenal beze olan kan akımının artması ile glukokortikoid üretimi artar. Bu mekanizma strese karşı klinik cevapta en önemli rolü oynamaktadır (13).

Adrenokortikotropik hormon ve kortizol salgısı olup diüurnal ritm göstermektedir ve iki hormon arasında negatif feed-back düzenlemesi vardır. Stres bu diüurnal ritmi ve feed-back mekanizmasını bozar. Adrenal fonksiyonlar insanlarda plazma ACTH, kortizol ölçülerek; deksametazon supresyon testi veya ACTH stimülasyon testi ile ölçülebilmektedir (10).

İmmün sistem hücrelerinde glukokortikoidler için reseptörler vardır. Suprafizyolojik dozlarda anti enflamatuvar etkileri gözlenmiştir. Glukokortikoid verilmesi sonrasında dolaşımda bulunan lenfositler azalır fakat granülositler artar, enflamatuvar bölgeye nötrofil göçü inhibe olur ve lokal enflamatuvar yanıt şiddeti azalır. Glukokortikoidler enflamasyon sırasında sitokin yanıtını da etkilemektedirler. Proinflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, interferon- γ , TNF- α) ve kemokinlerin baskılanması, IL-1 reseptör agonisti, TNF- α reseptör, IL-10 ve transforming growth faktör - β gibi anti enflamatuvar faktörlerin üretimini uyarır (12).

2.2. Enfeksiyonlarda Adrenal Bez Tutulumu

Bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlarda adrenal bezler etkilenmektedir. Özellikle menegokoksemi, tüberküloz ve bruselloz gibi enfeksiyonlarda adrenal bez tutulumu görülebilir (14). Ratlarda oluşturulan deneysel tularemide adrenal tutulum ve adrenal bezlerde büyüme gösterilmiştir (15).

Gram negatif bakterilerin dış membran proteini olan endotoksin immün sistemi uyarak TNF, IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına neden olur. HHA aksın aktive olmasını sağlar (16,17). Mediator seviyesi sepsisin klinik ağırlığı ile ilişkili bulunmuştur (18). Sepsiste kortizolün hepatik yıkımı artmaktadır ve sonuç olarak organizmanın kortizol ihtiyacı artabilmektedir. Yapılan çalışmalarla fizyolojik doz steroid tedavisinin sepsisli hastalarda verilebileceği bilinmektedir ve günümüzde noradrenalin tedavisine cevapsız hastalarda steroid verilmesi önerilmektedir (19). Ancak değişik etkenlere bağlı sepsis hastalarında adrenal fonksiyonların ve enflamasyonun derecesi ile ilgili veriler yetersizdir.

2.3. Sepsiste Adrenal Bez Tutulumu ve Histopatolojik Değişiklikler

Sepsis adrenal bezde nekroz, hemoraji ve adrenal yetmezliğe yol açabilmektedir (12). Adrenal kortekste hemoraji, en sık görülen makroskopik bulgudur. Septik şok nedeni ile kaybedilen vakaların postmortem incelemelerinde, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* 'nın adrenal bezde masif hemoraji, histopatolojik olarak ise kortikal alanda inflamasyon olduğu bildirilmiştir (20). Sepsiste görülen tromboza yatkınlık nedeni ile adrenal vende oluşan tromboz, bu hemorajinin nedeni olarak tahmin edilmektedir (21). Ayrıca sepsis durumunda adrenal kortekste, lipid hücrelerinde azalma görülür (22). Guarner ve ark. 'nın yapmış olduğu bir çalışmada, mortal seyreden bakteriyel enfeksiyonlarda, adrenal bezde, bakteri veya antijenleri de tespit edilmiştir. Bu, sepsiste adrenal bezin tutulduğunu göstermektedir. Adrenal yetersizlik mortalitede belirgin artış ile birlikte (23).

2.4. Sepsis

2.4.1. Tarihçe

Sepsis, enfeksiyon etkenine karşı vücutta cevap olarak gelişen fizyolojik, biyokimyasal ve patolojik olayların bütünüdür (1).

Kelime anlamı olarak ise sepsis; Yunanca kökenli “sepsin”, “sepo”, “sipsi” kelimelerinden gelmektedir ve “kokuşma, bozulma, çürüme” anlamındadır. Hipokrat tarafından yazıldığı bilinen Hipokrat'ın Toplu Yapıtları (Corpus Hippocraticum) isimli kaynakta; hayvansal ve bitkisel organik maddelerin ayrışması anlamında kullanılmıştır (24). İbni Sina tarafından ise yarada çürüme veya kan zehirlenmesi ve ateş durumu olarak tanımlanmıştır. On yedinci yy'da, Leeuwenhoek bakterileri, "hayvanlar kümeleri" ismi ile ilk kez tanımlamıştır ve 18. yy'da Louis Pasteur, organik maddelerin bozulmasını mikroorganizmalara bağlamıştır ve Ignaz Semmelweis, hijyen önlemlerine dikkat edildiğinde, doğum sırasında ve sonrasında anne ölümlerinin azaldığını gözlemlemiştir. 1914 yılında Hugo Schottmüller, patojenin kan dolaşımında olmasının sepsisin ana nedeni olduğunu savunmuştur. 1972 yılında ise Lewis Thomas, sepsis tablosunu oluşturan önemli bileşenlerden birisinin mikroorganizma, diğer bileşenin ise konak yanıtı olduğu fikrini ileri sürmüş ve böylece günümüz sepsis tanımının önemli temellerini oluşturmuştur (25). 1980'li yıllara kadar sepsis durumunu tanımlamak için “septisemi” “septikopyemi” “piyemi” gibi terimlerin sepsis yerine kullanıldığı

görülmektedir. 1989 ise “SIRS” ve “sepsis sendromu” tanımı getirilmiştir. Bu tanım içerisinde “sepsis”, “ağır sepsis” ve “septik şok” tanımlarına yer verilmiştir (26).

2.4.2. Tanımlar

Amerikan Göğüs Hastalıkları Derneği (ACCP) ve Yoğun Bakım Derneği’nin (SCCM) katılımıyla gerçekleştirilen bir toplantı 1991 yılında yapılmıştır ve 1992’de ise bu toplantının uzlaşma raporu yayınlanmıştır. Birçok enfeksiyonlara yanıt olarak sepsisin ortaya çıkabileceğini ve septiseminin gerekli bir koşul olmadığı ve faydalı bir terim olmadığı belirtilmiştir. Bu rapor ile septisemi, septik sendrom gibi bazı terimler terminolojiden çıkarılmıştır ve “Sistemik Enflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS)”, “Sepsis”, “Ağır Sepsis” ve “Septik Şok” terimleri literatüre girmiştir. Sepsis ‘konağın enfeksiyon etkenine karşı gösterdiği kontrolsüz sistemik enflamatuvar yanıt’ olarak tanımlanmıştır. SIRS ise; Ateş $\geq 38^{\circ}\text{C}$ veya $\leq 36^{\circ}\text{C}$, kalp hızı >90 atım/dk, solunum hızı >20 /dk veya $\text{PCO}_2 < 32$ torr, lökosit sayısı $\geq 12.000/\text{mL}$ veya $\leq 4.000/\text{mL}$ veya lökosit sayısı normal olmasına karşın immatür band formların $>10\%$ olması kriterlerinden iki veya daha fazlasının varlığı olarak tanımlanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Sistemik Enflamatuvar Yanıt Sendromu Tanı Kriterleri

SIRS Kriterleri
❖ Ateş $\geq 38^{\circ}\text{C}$ veya $\leq 36^{\circ}\text{C}$ ❖ Kalp hızı >90 atım/dk ❖ Solunum hızı >20/dk ❖ Lökosit sayısı $\geq 12.000/\text{mL}$ veya $\leq 4.000/\text{mL}$ veya lökosit sayısı normal olmasına karşın immatür nötrofillerin $>10\%$ olması

Enfeksiyon haricinde travma gibi nedenlerle de SIRS oluşabileceği için sepsis tanımı SIRS kriterleri+Enfeksiyon odağı varlığı olarak belirlenmiştir. Şiddetli sepsis tanımı, akut organ fonksiyonu bozukluğu, hipotansiyon veya hipoperfüzyon varlığında, sepsis olarak vurgulanmıştır. Yeterli sıvı desteğine rağmen hipotansiyon ve hipoperfüzyon bulgularının veya organ fonksiyon bozukluklarının devam etmesi septik şok olarak adlandırılmıştır. Çoklu organ yetmezliği sendromu ise birden fazla organ sisteminde akut veya subakut organ fonksiyon bozukluğunun gelişmesi durumudur (27). SIRS değerlendirmesinin yüzeysel klinik ve laboratuvar parametrelerine bağımlı olması ve patofizyolojinin anlaşılması konusundaki yeni gelişmelerle birlikte tanımlamaların yetersiz olduğu ortaya çıkmıştır. Bu nedenle tanımları değerlendirmek ve geliştirmek amacıyla 2001 yılında Uluslararası Sepsis Tanımları Toplantısı düzenlenmiştir.

Amerikan Toraks Derneği (ATS), Avrupa Yoğun Bakım Derneği (ESICM), Amerikan Göğüs Hastalıkları Derneği (ACCP), Yoğun Bakım Derneği (SCCM) ve Cerrahi Enfeksiyon Derneği (SIS)'nin katıldığı bu konferansta alınan kararlara göre; 1992 yılında yapılan tanımlamalar geçerli kalmış ancak daha iyi tanı ve sınıflandırma yapabilmek doğrultusunda, hastalık tanımına bir dizi eklemelerde bulunulmuştur.

Hipoperfüzyon semptomlarından olan ortalama arteriyel basınç ve oligüriye; biyokimyasal belirteçlerden oksijenizasyon ve koagülasyon parametreleri ile karaciğer fonksiyon testlerinin erken tanıdaki önemi vurgulanmıştır. Sepsisin klinik belirtiler ile tanımlanmasından çok biyokimyasal ve immünolojik kriterlerin sepsis şüphesinde kullanılmasının yararlı olacağı belirtilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Sepsis için tanısal kriterler

Genel Bulgular: Vücut ısısı $>38.3^{\circ}\text{C}$ veya $< 36^{\circ}\text{C}$ Kalp hızı $>90/\text{dk}$ veya yaşa göre normal değerin >2 SD üstü Taşipne Mental durum değişikliği Önemli ödem veya pozitif sıvı dengesi (24 saatte $>20\text{mL/kg}$ üzerinde) Diyabeti olmayan hastalarda hiperglisemi (plazma glikozu $>120\text{ mg/dL}$ veya 7.7 mmol/L)
Enflamatuvar Bulgular: Lökositoz (lökosit sayısı $>12.000\text{ }\mu\text{L/L}$) Lökopeni (lökosit sayısı $<4.000\text{ }\mu\text{L/L}$) Normal beyaz küre sayısı ile birlikte $>10\%$ olgunlaşmamış nötrofil Plazma C-reaktif protein normal değerin >2 SD üstü Plazma prokalsitonin normal değerin >2 SD üstü
Hemodinamik Değişkenler: Arteriyel hipotansiyon (SKB $<90\text{ mmHg}$, OAB<70 , erişkinde SKB 'ında $> 40\text{ mmHg}$ düşüş veya yaş için normal olanın <2 SD altı) ScvO₂ $>70\%$, Kardiyak indeks $<3.5\text{ L.dk/1/m}^2$
Organ Disfonksiyonları: Arteriyel hipoksemi (PaO₂/FiO₂ <300) Akut oligüri (yeterli sıvı replasmanına rağmen en az 2 saat boyunca idrar miktarı $<0.5\text{ mL/kg/saat}$) Kreatinin artışı ($>0.5\text{ mg/dL}$ veya $44.2\text{ }\mu\text{mol/L}$) Koagülasyon bozuklukları (INR >1.5 veya aPTT $>60\text{ sn.}$) İleus Trombositopeni ($<100.000\text{ }\mu\text{L}$) Hiperbilirubinemi (plazma total bilirubin $>4\text{ mg/dL}$ veya $70\text{ }\mu\text{mol/L}$)
Doku Perfüzyon Değişkenleri: Hiperlaktatemi ($>1\text{ mmol/L}$) Kapiller dolmanın azalması veya beneklenme

SIRS pozitifliği ile birlikte kanıtlanan enfeksiyon veya şüphelenilen enfeksiyon varlığında da kanıtlanmış olmasa dahi sepsis tanısının konulması, sepsisin düşünülmesi gerektiği

ileri sürülmüştür. Şiddetli sepsisin tanımında değişiklik yapılmamış, septik şok persistan arteriyel hipotansiyon ile karakterize akut dolaşım yetersizliği olarak tanımlanmıştır (28). 2008 ve 2012 yıllarında yayınlanan sepsis sağkalım kampanyası kılavuzları bu tanımları değiştirmemiştir.

Tanımlamaların tekrar değerlendirilmesi ihtiyacının saptanması ile Avrupa Yoğun Bakım Derneği (ESICM), Yoğun Bakım Derneği (SCCM), 2014 yılında; yoğun bakım, enfeksiyon hastalıkları, cerrahi ve göğüs hastalıkları uzmanları ile toplantı yapmıştır.

Mevcut tanımlamalar, patobiyolojik bilgiler, geniş elektronik kayıtlar ışığında tekrar gözden geçirilmiştir. Erken ve hızlı tanı sağlayan, klinikte kolay uygulanabilir, makul maliyetli kriterler belirlenmeye çalışılmıştır.

Tablo 3. Sequential (Sepsis-Related) Organ Failure assessment Score

Sistemler	0	1	2	3	4
Solunum sistemi PaO ₂ /FiO ₂ (kPa)	≥400 (53.3)	<400 (53.3)	<300 (40)	<200 (26.7)	<100 (13.3)
Koagülasyon Trombosit sayısı (10 ³ /mm ³)	≥150	<150	<100	<50	<20
Karaciğer Bilirubin, mg/dl (μmol/L)	<1.2 (20)	1.2-1.9 (20-32)	2.0-5.9 (33-101)	6.0-11.9 (102-204)	>12 (204)
Kardiyovasküler Hiptansiyon	≥70 mmhg	<70 mmhg	Dopamin<5veya Dobutamin desteği	Dopamin5.1-15 veya Epinefrin ≤ 0.1 veya Norepinefrin≤0.1	Dopamin>15 veya Epinefrin >0.1 veya Norepinefrin>0.1
Merkezi Sinir Sistemi Glaskow Koma Skalası	15	14-13	12-10	9-6	<6
Böbrek Kreatinin, mg/dl (μmol/L) İdrar volümü ml/d	<1.2 (110)	1.2-1.9 (110-170)	2.0-3.4 (171-299)	3.5-4.9 (300-440) <500	<5.0 (440) <200

Organ disfonksiyonunun şiddetini belirlemek için, klinik veya laboratuvar bulgularına göre, anormallikleri ölçen birçok değişik skorlama sistemi değerlendirilmiş ve bunlar arasında mortalite oranını tahmin etmede en tutarlı olan sistem, Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessment (SOFA) olarak belirlenmiştir (Tablo 3) (29). Buna göre; **Organ disfonksiyonu**, enfeksiyon varlığında, toplam SOFA skorunda en az iki

puan akut değişim olarak tanımlanmıştır. **Sepsis**, enfeksiyona karşı düzensiz konak yanıtı ile oluşan, hayatı tehdit edici durumdur. **Septik şok**, 65 mmHg veya daha yüksek bir arteriyel basıncı korumak için vazopressör gereksinimi ve serum laktat düzeyinin, hipovolemi yok iken 2 mmol / L'nin ($> 18 \text{ mg / dL}$)'ün üstünde olmasıdır. Hücresel veya metabolik anormalliklerin artmış mortalite riski ile ilişkili olduğu, sepsisin bir alt kümesi olarak tanımlanmıştır. Ağır sepsis tanımı ise kaldırılmıştır (30).

SOFA skorunun hesaplanması laboratuvar verileri gerektirmektedir. Bu durumda tanı ve tedavide gecikme ihtimaline karşı, klinik kriterlerin kullanıldığı hızlı-SOFA (quick SOFA/qSOFA) kriterleri geliştirilmiştir. Bu skorlamada, 100 mmHg veya daha düşük sistolik kan basıncı, 22 / dakika veya daha fazla solunum hızı ve değişen mental durum kriter olarak kullanılmaktadır. Enfeksiyon şüphesi olan ve mortalite olasılığı daha yüksek olan hastalarda basit ve hızlı bir değerlendirme sağlamaktadır (31).

2.4.3. Epidemiyoloji

Teknolojiye paralel olarak teşhis ve tedavideki gelişmelere rağmen sepsis, tüm dünyada yoğun bakım ünitelerine en sık başvuru ve yoğun bakım ünitesinde enfeksiyon kaynaklı en sık ölüm nedenidir (31,32). Sepsis, hastanede yatan hastaların yaklaşık %10'unda görülmektedir ve bu hastaların %30'unda çoklu organ fonksiyon bozukluğu (MODS) gelişmektedir. Mortalite oranları ise sepsisli hastalarda %20 ve septik şoklu hastalarda %60-80 oranlarında bildirilmektedir. Tüm dünyada yılda 10 milyondan fazla kişinin ölüm nedeni olarak tanımlanmıştır (33). Bu durum önemli tıbbi ve ekonomik zorluklara neden olmaktadır.

Kateterizasyon, endotrakeal entübasyon ve mekanik ventilasyon gibi invaziv gelişimlerde ve antibiyotik kullanımında artış, yoğun bakım yatış sürelerinde uzamaya yol açmıştır. Ayrıca altta yatan kronik hastalıkların (diabetes mellitus, KOAH, kanser vb.) tedavi protokollerinin gelişmesine bağlı yaşam süresinin uzaması ile sepsis insidansında artış olmaktadır (34).

İnsidansı belirlemek için yapılan bir çalışmada Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre yılda her yüzbin kişide 300 ağır sepsis ve 240 sepsis vakası tanımlanmıştır (35,36). 1979-2015 yılları arasında gelişmiş ülkelerden bildirilen verileri değerlendiren bir meta-analizde ise sepsisin yıllık insidansı yüzbin kişide 288, ağır sepsis insidansı ise yüzbin kişide 148 bulunmuştur. Son 10 yıl için değerlendirmede ise insidans hızı, yüzbin kişide-yılbaşına 437 sepsis ve 270 ağır sepsis vakası olarak tanımlanmıştır. Aynı

çalışmada hastane mortalite oranı sepsis için %17, şiddetli sepsis için %26 olarak verilmiştir (4). Sağlık hizmetine ulaşımın kolay olması, dolayısıyla tutulan kayıtların güvenilir olması nedeni ile gelişmiş ülkelerde veriye ulaşım daha sağlıklı olmaktadır. Bu yüzden insidans çalışmaları genelde gelişmiş ülkeleri yansıtmaktadır. Ülkemizde 2016 yılı verilerine göre 22.836 sepsis vakası bildirilmiştir (37).

2.4.4. Etiyoloji

Sepsisin etiyojisinden bakteriler başta olmak üzere birçok mikroorganizma sorumludur. Antibiyotiklerin olmadığı zamanlarda en sık sepsis etkeni olarak gram pozitif bakteriler tanımlanmıştır. Antibiyotiklerin kulanıma girmesi ile gram negatif bakteriler sepsiste daha fazla etken olarak görölmeye başlanmıştır. Ayrıca anaerob bakteriler de az sıklıkta görölse de sepsis etkeni olabilirler. Gram pozitif bakteriler daha sık görölse de mortalite oranları karşılaştırıldığında, gram negatif etkenlerin, gram pozitif etkenlerden daha fazla mortaliteye sahip olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (38). Yoğun bakım ünitesinde takip edilen sepsisli hastalarda yapılan retrospektif bir çalışmada, kan dolaşımından en sık izole edilen gram negatif bakterinin *Escherichia coli* (%25,5) olmasına rağmen en yüksek mortalite oranına (%77,3) sahip gram negatif bakteri *Acinetobacter spp.* olarak saptanmıştır ve bu türde karbapenem direncinin %50 oranında olduğu bildirilmiştir (39,40).

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi yoğun bakım ünitelerinde 2016 yılında gelişen nozokomiyal enfeksiyon epizodlarının %21,9 unda etken olarak *A. baumannii* izole edilmiştir. Kan dolaşımı enfeksiyonlarından sorumlu mikroorganizmalar değerlendirildiğinde *A. baumannii* %14,5 ile ilk sırada görölmüştür. Cerrahi alan enfeksiyonlarında etken olarak birinci sırada *E. coli* (%21,6) ve ikinci sırada *A. baumannii* (%12) saptanmıştır. Aynı yıl Hematoloji-Onkoloji ve Kemik İliği Nakil Ünitesi'nde yapılan kayıtlara göre 221 bakteriyemi olgusunun %49,8'inde gram negatif bakteriler etkindir. Gram negatif bakteriler arasında ise en sık etken (%56,7) *E.coli*'dir. Yoğun bakım ünitelerinde nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak izole edilen bakterilerden *A. baumannii*'de %98,1 ve *E. coli*'de ise %11,5 oranında imipenem direnci saptanmıştır. *E.coli* suşlarının %100'ünde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üretimi vardır (7).

2.4.4.1. *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter ilk kez 1911 yılında topraktan izole edilmiş ve *Micrococcus calcoaceticus* olarak isimlendirilmiştir. 1939 yılında DeBord'un gram negatif kokobasilleri üretral örnekten izole etmesiyle tanımlanmıştır (41,42). *Acinetobacter* cinsi, Moraxellaceae familyası altında sınıflandırılmıştır. 50'den fazla türü bulunmasına rağmen, çoğunlukla patojenik olmayan çevresel organizmalardır. Enfeksiyonlara neden olan en yaygın tür *A. baumannii*, ardından *A. calcoaceticus* ve *A. lwoffii* olarak tanımlanmaktadır (43).

Morfoloji ve boyanma özellikleri

Acinetobacter cinsindeki bakteriler, logaritmik üreme fazında kısa, 1,0-1,5 pm uzunluğunda basil, üremenin duraklama fazında kok veya kokobasil şeklinde görülen gram negatif bakterilerdir. Fimbriaları vardır, hareketsizdirler (42).

Kültür ve biyokimyasal özellikleri

A. baumannii, kültür ortamında 35-37°C'de üreyebilen, nonfermentatif, S veya M tipi, krem rengi veya renksiz koloniler oluşturur. Zorunlu aeroptur. DNaz ve oksidaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif özelliğe sahiptirler. Hareketsiz bakterilerdir. Nitratları redükte etmezler. Diğer nonfermantatif bakterilerden oksidaz negatif olması ile ayrılır (42). *Acinetobacter* türleri arasında klinikte etken olarak en sık karşılaşılan ve en önemli ölümcül klinik tablolara yol açan tür *A. baumannii*'dir. *Acinetobacter* türleri arasında ayırım, biyokimyasal reaksiyonlara ve üreme özelliklerine göre rutin laboratuvar şartlarında yapılabilmektedir. Buna göre glukozu oksitleyen, hemoliz yapmayan, 44°C'de üreyebilen kökenler *A. baumannii*'dir.

Klinik laboratuvarlarda, rutinde, nonfermantatif bakteri izolasyonunda, kanlı agar ve eozin metilen blue agar gibi besiyerleri kullanılır. Üç şekerli demirli besiyeri (TSI) ve oksidatif fermentatif besiyerinde asit oluşturmazlar (43).

Virulans ve patojenite özellikleri

Acinetobacter cinsi bakteriler, düşük virülanslı, fırsatçı patojenlerdir. *A. baumannii*, toprak, sebze, et ve fındık dahil olmak üzere çeşitli çevresel kaynaklarda bulunur. Sağlıklı insanların deri, boğaz, burun delikleri, koltuk altı, kasık gibi nemli bölgelerde kolonize olur. Bu organizmalar düşük virulans olarak değerlendirilse de esasen

başıklığı baskılanmış ya da kritik hastaları etkileyen ve önemli morbidite ve mortaliteye neden olan hastane kökenli enfeksiyonların bir nedeni olarak görülmektedir (44,45,46). Sağlık hizmeti veren kurumlarda, tüm dünyada sorun oluşturmaktadır. 1970'lerden beri, ileri yoğun bakım desteklerinin artması ile birlikte, mekanik ventilasyon, santral venöz ve idrar kateterizasyonu ve antibakteriyel tedavinin giderek yaygınlaşması ve yoğunlaşmasına paralel olarak asinetobakter enfeksiyonlarının sıklığı ve ciddiyetinde bir artışa neden olmuştur. Kontamine ventilatörler, havalandırma cihazları ve santral venöz kateterler gibi tıbbi cihazlar veya kolonize sağlık personelinin elleri salgıların asıl kaynaklarını oluşturmaktadır (43).

A.baumannii'nin birden fazla virulans faktörü vardır. Hücresel geçirgenliği düzenleyen dış membran proteinleri olan **Porin**'ler antibiyotiklerin hücre içine geçişini engellemektedir. **OmpA** bu porinlerden en iyi tanınmış olanı ve dış zarda en çok bulunanıdır. Biyofilm oluşumunu kolaylaştırarak *A. baumannii*'nin sağkalımını artırır ve antibiyotik direnci ile de yakından ilişkilidir (47).

Lipopolisakkarid (LPS), yapı *A.baumannii*'de TNF- α ve IL-8 gibi sitokinlerin makrofajlardan salınmasına neden olan bir immünoreaktif moleküldür. LPS yapısında meydana gelen değişiklikler, kolistin başta olmak üzere birçok antibiyotiğe direnç ile ilişkili bulunmuştur (48). Ayrıca **kapsüler polisakkarid** yapılar da artmış antimikrobiyal direnç nedenlerinden birisidir. Polisakkarid kapsülün eksikliği bulunan mutantların, peptid antibiyotiklere karşı direnci düşüktür. Buna ek olarak, antibiyotiklerin varlığı kapsüler polisakkaritlerin artmış üretimine de neden olur (49).

Fosfolipaz (PL) isimli enzim de birçok gram negatif bakteride olduğu gibi *A.baumannii* için de virulans faktörüdür. PLA, PLB, PLC, PLD olmak üzere alt türleri vardır, konağa invazyon için gerekli faktörlerden birisidir (47).

Demir Kazanım Özellikleri, *A. baumannii*'nin farklı demir kaynaklarını kullanabilmesine ve konağa kolonize olmasına olanak sağlar. Demir gereksinimi bakterilerin çoğalmaları sırasında olur ve enfeksiyonun devamı açısından önem arz etmektedir (49).

Antibiyotik Direnci; *A.baumannii*, birçok antibiyotiğe karşı (glikopeptidler, makrolidler, lincozamidler ve streptograminler) yüksek seviyede intrinsek dirence sahiptir. Ayrıca, tedavide kullanılan tüm antibiyotik sınıflarına karşı direnç geliştirebilir. Bu süreç; hedef bölge değişikliği, efflux pompaların aşırı ekspresyonu (EP) ile ilacın

hücre dışına atılması, antibiyotik modifiye edici enzimler ile ilaç yapısında değişiklik oluşturulması veya yeni direnç belirleyicilerinin elde edilmesine yol açan genetik değişikliklerle olabilir (50).

Hastane ortamında artmış antibiyotik kullanımı ile *A. baumannii* suşları mutasyonel değişikliklerin yanı sıra, *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyelerinden gen transferi yoluyla direnç kazanabilir. Son yıllarda *A. baumannii* için etkili tedavi seçenekleri olan penisilinler, sefalosporinler, aminoglikozitler, kinolonları ve tetrasiklinlere karşı yüksek düzey dirençler tanımlanmaktadır (51). Karbapenemler, antibakteriyel aktivite açısından, beta-laktam antibiyotikler arasında en geniş etki spektrumuna sahip olan gruptur. C-1 pozisyonundaki kükürt yerine karbon varlığı ve C-2 ve C-3 arasında çift bağ bulundurma nedeniyle penisilinlerden yapısal olarak farklıdır. Diğer beta-laktam antibiyotikler gibi bakteri hücre duvarının yapısı ve biyosentezi ile ilişkili etkileri nedeni ile bakterisidal etki göstermektedir. Ayrıca porinler yoluyla gram negatif bakterinin hücre içine girerek etki gösterir (52).

Etki spekturmu gram pozitif, gram negatif ve anaerob bakterileri içermektedir. İyi aktiviteleri ve düşük toksisiteleri nedeniyle, karbapenemler *A. baumannii* enfeksiyonlarında başlıca tedavi seçeneği olarak kullanılmıştır (53). Çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde karbapenemlerin "son çare" antimikrobiyal olduğu düşünülürken son zamanlarda karbapenem direncinde hızlı bir artış gözlenmiştir. Direnç, enzimatik ve non-enzimatik olarak iki şekilde oluşmaktadır. OmpA porinlerinin ekspresyonunun azaltılması ve efflux pompası ekspresyonunda artış ile antibiyotiğin dışarı atılması, başlıca **enzimatik olmayan direnç** mekanizmalarıdır. Porinlerden özellikle dış membran proteini **CarO**, imipenem direncinde artış ile ilişkilidir. **AdeABC** isimli efflux pompası ise meropenemin yanı sıra florokinolonlar, tetrasiklinler, aminoglikozidlere karşı gelişen dirençte rol oynamaktadır (54). **Enzimatik direnç** mekanizmasında ise başlıca enzim beta laktamazlardır. Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler gibi farklı beta-laktam antibiyotik gruplarının hidrolitik inaktivasyonu ile etki ederler. Bu enzimler, dizi homolojisine göre dört alt grupta sınıflandırılır: A, B, C ve D. Karbapenem direnci; Ambler sınıf C beta-laktamazların (AmpC beta-laktamazlar), seçilen genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (ESBL) ve karbapenemazların artmış üretimi ile olmaktadır (56). *A.baumannii*'deki karbapenem direncinin en önemli mekanizması, beta laktamazların alt grubu olan karbapenemazlardır. İki değerlikli katyonların enzim aktivasyonuna katılımına bağlı olarak, karbapenemazlar; metallo beta laktamazlar (sınıf B) ve metalik

olmayan beta laktamazlar (sınıf A, C ve D) olarak ayrılabilir. Metallo beta laktamazlar, hidroliz için bir ağır metal iyonuna ihtiyaç duyarlar. Diğer grup karbapenemazlar tarafından yapılan karbapenem antibiyotiklerin hidrolitik inaktivasyonu, asilasyon ve deasilasyon reaksiyonlarını içerir. Sınıf D beta-laktamazlar ise izoksazolilpenisilin - oksasilini, benzilpenisilinden çok daha hızlı hidrolize edebilmeleri nedeniyle, OXA (oksasilinaz) olarak isimlendirilirler. Karbapenemaz aktivitesine sahip 400 den fazla OXA tipi tanımlanmıştır. Bu enzimlerin *A. baumannii* suşlarında karbapenem direncinin en yaygın etkeni olduğu düşünülmektedir (57).

Neden Olduğu Hastalıklar

Acinetobacter türleri sıklıkla nozokomiyal enfeksiyonlara, özellikle pnömoni (entübasyon ve trakeostomi sonrası) ve kateterle ilişkili bakteriyemi etkeni olmakla birlikte, yumuşak doku enfeksiyonları (cerrahi girişimlerden sonra), idrar yolu enfeksiyonları (kateter uygulamasına bağlı sistit ve piyelonefrit gibi), geçirilmiş cerrahi sonrası menenjit gibi intrakraniyal enfeksiyon etkeni olarak da görülebilmektedir. Toplum kaynaklı enfeksiyonlarda etken olarak, *Acinetobacter spp.* giderek daha fazla rapor edilmektedir (41).

Mekanik ventilasyon desteği, özellikle uzun süreli hastanede veya yoğun bakımda yatış, etrafta kolonize hastalar olması, girişimsel işlemler, kan ürünü transfüzyonu, hastalığın şiddeti ve geniş spektrumlu antimikrobiyal ajanların özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlerin, karbapenemlerin ve florokinolonların kullanımı, *A. baumannii* ile kolonizasyon veya enfeksiyon riskini arttıran faktörler olarak belirtilmiştir (58,59).

A. baumannii pnömonisi, ağırlıklı olarak mekanik ventilasyona ihtiyaç duyan YBÜ'li hastalarda ortaya çıkmaktadır. Bu hastaların, diğer gram-negatif basillerin neden olduğu pnömonili hastalara veya enfekte olmamış hastalara kıyasla YBÜ'de ve ventilatörde daha uzun yatışları söz konusudur (42,59).

A. baumannii enfeksiyonu sırasında sık görülen bakteriyemi, mortalitesi yüksek bir durumdur, genellikle pnömoni ve damar içi kateter kullanımından sonra gelişmektedir. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri'nde *A. baumannii* bakteriyemi olgularının değerlendirildiği bir çalışmada, mortaliteyi etkileyen risk faktörlerinin diyabetes mellitus (DM), karbapenem direnci ve septik şok gelişimi olduğu belirtilmiştir. Yenidoğanlar *Acinetobacter* bakteriyemisi için ikinci önemli hasta grubunu oluşturur. Bakteriyemi için risk faktörleri düşük doğum ağırlığı, mekanik

ventilasyon, öncesinde antibiyotik kullanımı ve yeni doğan konvülsiyonlarının varlığı olarak tanımlanmıştır (60).

Acinetobacter'lere bağlı menenjitler nadir görülür fakat yüksek mortalite oranlarına sahiptir. Primer menenjitli sporadik vakalar bildirilmesine rağmen özellikle beyin cerrahisi uygulamalarından sonra veya kafa travmasını takiben gelişen sekonder menenjit olguları görülmektedir. Ventrikülostomi, serebrospinal sıvı kaçağı, BOS fistülleri, beş günden uzun süreli tutulan ventriküler kateterler ve aşırı antibiyotik kullanımı risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (61,62).

Alt üriner sistemde *A. baumannii* kolonize olabilir fakat genelde sistemik enfeksiyon oluşturmaz. Üriner kateter ve böbrek taşı olan hastalarda, sistit ve piyelonefrit etkeni olabilmektedir (62). *A. baumannii* kateter ilişkili selülide neden olabilmektedir. *Streptococcus pyogenes* ile birlikte, nekrotizan fasiit de yapabilmektedir. *Acinetobacter* türleri travmatik yaralarda özellikle savaş yaralarında, postoperatif insizyon alanları ve yanıklarda önemli bir enfeksiyon etkeni olabilir. Vietnam savaşında ekstremitte yaralarında en sık görülen gram negatif bakteri *A. baumannii*'dir (63). Marmara depremi sonrasında nozokomiyal enfeksiyonlara yol açtığı görülmüştür (64). *A. baumannii* devamlı periton diyalizi yapan hastalarda nadiren peritonit etkeni olabilmektedir. En sık klinik bulgu karın ağrısı ve bulanık diyalizat sıvısıdır. İleri yaş, hastanede yatış öyküsü, sık kateter değişimi enfeksiyon sıklığını arttırmaktadır. Yaşlı ve polimikrobiyal üreme gözlenen hastalarda prognoz kötüdür (65).

2.4.4.2. *Escherichia Coli*

Enterobacteriaceae familyasında *Escherichia* genusu içinde yer alan *Escherichia coli*, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemde kolon florasında bulunan en yaygın fakültatif anaerob bakteridir. Spor oluşturmaz ve genellikle hareketlidir. Laktozu fermente ederek asit oluşturur ve üreaz negatiftir. Hidrojen sülfür oluşturmaz ancak triptofandan indol oluşturur.

E. coli idrar yolu enfeksiyonları, yenidoğan menenjiti, sepsis ve gastrointestinal sitem enfeksiyonlarında etken olarak bulunur. Toplum kaynaklı (%80-85) ve hastane kaynaklı (%50) üriner sistem enfeksiyonların en sık etkeni *E. coli*'dir. Hastane kaynaklı *E.coli*'lerin toplum kaynaklı *E. coli*'lerden önemli bir farkı birçok antibiyotiğe dirençli olmalarıdır (66,67).

Morfoloji ve Boyanma Özellikleri: Yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda ve 1-1.5 µm eninde olan, uçları yuvarlak basillerdir. Genellikle etraflarında bulunan kirpikleriyle yavaş hareket ederler, kapsüllü olup hareketsiz olan suşlar da mevcuttur. Gram negatif boyanma özelliğine sahiptir.

Kültür ve biyokimyasal özellikleri: Fakültatif anaerob bakterilerdir ve optimal üreme ısısı 37°C'dir. 5-45 °C derede ve pH: 5-8 arasında da üreyebilme özellikleri vardır. Bazı suşlar kanlı agarda hemoliz yapabilirler.

Laktoz, glikoz, maltoz, mannitolden asit ve gaz oluşturur. Laktoza olan pozitif etkileri özellikle *Salmonella* ve *Shigella* gibi bu şekere etki etmeyen diğer enterik bakterilerden ayırt edilmelerini sağlar. Bu yüzden pratikte *E. coli*'nin dışkıda birlikte bulunduğu laktoza etki etmeyen bakterilerden ayırt edilmesinde içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılır. Enterik bakterileri İMVİC testleriyle ayırt etmek mümkündür. *E. coli* için indol, metil kırmızısı, voges proskauer ve sitrat (İMVİC) testleri (+ + - -)'dir. *E. coli*'ler triptofandan indol yaparlar, Metil kırmızısı testi pozitif, Voges Proskauer testi negatiftir. *E. coli*'ler bazı suşları dışında üreyi parçalamazlar (68).

Virulans ve Patojenite Özellikleri: *E. coli*'nin çeşitli konaklarda değişik dokuları infekte edebilmek için çok sayıda değişik virulans faktörü vardır (69). **Fimbriya**, bakterinin Üriner sistemde enfeksiyon oluşturabilmesi için üroepitelyal hücrelere özgül olarak bağlanabilmesini sağlar. *E. coli*'lerde adezyondan sorumlu en önemli yüzey adezinleridir. Fimbriyal yapılar enfeksiyon oluşturmada diğer virulans faktörlerinden daha önemlidir. Patojen *E. coli* suşlarında bulunan fimbriyal antijenler konağa ve türe özeldir. Bu adezinler bakteriye çok önemli iki ana özellik olan hemagglütinasyon ve adezyon özelliği kazandırmaktadır (70).

Enterotoksinler, Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) suşları gastrointestinal sistemi etkileyen iki enterotoksin salgırlarlar. Bunlar yapımı plazmidle kodlanan ısıya duyarlı LT (kolera toksinine benzer) ve ısıya dirençli ST (stabil toksin)' dir. Bu iki enterotoksin epitel hücrelerinden emilimi engellemekte ve hücrelerin su ve elektrolit sekresyonuna neden olmaktadır (70).

Verotoksinler, Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) suşları tarafından salgılanır. *Shigella*'ların salgıladığı shiga toksine çok benzer ve sitotoksik etkiye sahiptir. Bu serotip etken olduğu zaman, ishal, hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendrom gelişebilmektedir (71).

Lipopolisakkarid (LPS), gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunur, üriner sistem enfeksiyonlarında, lokal inflamatuvar yanıtı indükleyerek semptom ve bulguların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. LPS yapısında bulunan Lipid A molekülü toksik, proinflamatuvar ve immünomodulator etkiye sahiptir, IgM ve IgG yanıtına neden olur. Gram negatiflerin etken olduğu bakteriyemilerde oluşan klinik tablo, izole LPS veya Lipid A uygulaması ile oluşturulabilir (72)

Kapsül, polisakkarit yapıdadır dolayısıyla zayıf immünolojiktir. Alternatif yoldan kompleman aktivasyonunu bozar ve bakterinin opsonizasyon ve fagositozunu önler (73). **Plazmid**, patojenler arası direnç genlerinin taşınmasını sağlar. Plazmidler sayesinde bugün üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının %11.3'ü üçüncü kuşak sefalosporinlere ve %31.3'ü kinolonlara dirençli hale gelmiştir (74).

Antijenik Özellikler, *E. coli*'lerde O, H, K ve fimbriya antijenlerine ve serolojik olarak O antijenleri gruplarına göre belirlenmektedir. H ve K antijenleriyle de serovarlara ayrılırlar. **“O” antijeni**: Somatik, ısıya dayanıklı lipopolisakkarit yapısında olan bu antijenler, kaynatmaya ve alkole dirençli ama formole duyarlıdırlar (75). **“H” Antijeni**, hareketli suşlarda bulunan, protein yapısında antijenlerdir. 100°C'de ısıtmakla, alkol ve proteolitik maddelerle tahrip olur fakat formole dayanıklıdırlar. **“K” Antijeni**, kapsül antijenleridir, aglütinasyon özellikleri ve yapılarının farklılığına göre K1, K2, ... şeklinde isimlendirilirler ve yaklaşık 80 çeşidi saptanmıştır. Polisakkarid yapısında olan K antijenleri ısıya dayanıklıdırlar. K1 antijeni *E. coli*'lerin %80'inde bulunmaktadır. Bu antijen sayesinde *E. coli*, fagositozdan ve opsonizasyondan ve kompleman aktivasyonundan kaçır. Beyin omurilik sıvısında ve kanda bakterinin canlılığını sürdürmesine yardımcı olur (76,77).

Neden Olduğu Hastalıklar

Gastroenterit, idrar yolu enfeksiyonu, menejit, sepsis gibi birçok hastalık için etkindir. Toplum kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının %80'den fazlasından sorumludur. Sepsis etkeni olduğu durumlarda sıklıkla idrar yolu enfeksiyonu veya gastroenterit kaynaklıdır. Ayrıca *E. coli*'nin kolesistit, kolanjit, peritonit, perineal abseler, yeni doğan sepsis ve menenjitleri ve daha seyrek olarak da sinüzit, otit, endokardit, flebit, apandisit, yara enfeksiyonları gibi enfeksiyonlarda etken olduğu bilinmektedir (78).

Bağırsak Hastalıkları

E. coli 'nin bağırsak mukozası ile olan etkileşimi, klinik belirtiler, epidemiyolojiler ve O:H serogruplarındaki farklılıkları göz önüne alınarak dört gruba ayrılırlar.

Enterotoksinogen *E. coli* (ETEC) suşları hafif enteritlerden şiddetli ishale kadar geniş bir tablodan sorumlu olabilir ve hastalık ciddi sıvı kaybı ve şiddetli dehidrasyona bağlı olarak hayati tehlike oluşturmaktadır (79). Çeşitli adezinler ile ince bağırsak epiteline bağlanır. ETEC enterotoksinlerin her ikisini de LT ve ST salgılar ve aynı zamanda konakçıya zarar verirken konak savunmalarından kaçır. Enterotoksinin etkisinin kolera toksinine benzer olduğu ve bağırsak epitelindeki adenilat siklazı aktive ederek siklik adenosin monofosfat konsantrasyonunda olan yükselme sonucunda bağırsak boşluğunda izotonik sıvı ve Na⁺ iyonunun geri emiliminin azalmasına neden olmaktadır (80).

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) izolatları oldukça invaziv olan bir serotiptir. Enfeksiyonun kliniği diyare ve yüksek ateş ile seyredebilir. *Shigella*'larda olduğu gibi bağırsak mukozasının içerisine yayılarak aynı nitelikteki ülserli ve pürülan salgılı lezyonlara ve kolit biçimindeki klinik tablolara yol açabilirler. İnvaziv fenotipe aracılık eden belirteçleri kodlayan bir virülan plasmide sahiptirler.

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), Shiga toksininin varlığında, hücrelere bağlanabilir ve apoptozu indükleyebilir. Toksin, aynı zamanda hücrelerde proenflamatuvar bir tepki verebilir, Bakteriyel lipopolisakkarit (LPS), konak yanıtını uyarır ve *E. coli* O157:H7 kökenlerinin, hemorajik kolit tipi hastalıklardan sorumlu oldukları görülmekte ve bu kökenler için EHEC adı kullanılmaktadır. Az pişmiş hamburger, pastörize edilmemiş sütler ve hayvanın dışkılarıyla kontamine meyve sularından bulaşır. *E. coli* O157:H7 ölümle sonuçlanabilen salgınlara neden olabilmektedir.

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC): çocuklarda yapışma bozma mekanizmasıyla ishal salgınlara yol açar. İnvazif değildir ve ekzotoksini yoktur (81).

Bağırsak Dışı Hastalıkları

Basit idrar yolu enfeksiyonundan yüksek mortalite oranları ile sonuçlanan bakteriyemiye kadar birçok enfeksiyon oluşturmaktadır. Özellikle son yıllarda, hiper-virülan ve antibiyotik dirençli suşların ortaya çıkışı nedeni ile önemi artmıştır (73). En sık idrar yolu enfeksiyonları ile ilişkilidir ve hem basit toplum kaynaklı idrar yolu enfeksiyonları (İYE'ler) hem de piyelonefrit vakalarının yaklaşık %90'ında etken olarak

izole edilmiştir. Prostatit ve kateterle ilişkili İYE'ler de dahil olmak üzere üriner sistemin diğer enfeksiyonları sıklıkla etkendir.

Batın kaynaklı enfeksiyonlarda etken olarak görülebilir. Biliyer enfeksiyonlar, peritonit ve pelvik inflamatuvar hastalık dahil birçok batın içi enfeksiyona neden olur. Daha az sıklıkla cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları yapar. İlk enfektif odaklardan hematogen invazyon yaparak sepsise neden olur, bu da zamanında yapılan tedavinin yokluğunda, ölümle sonuçlanabilir.

Yenidoğanlarda gram negatif menenjitlerin en sık nedenidir. Ölüm oranları%40'a yaklaşabilir ve sağkalanlarda ise nörolojik sekeller bırakır. İlk kolonizasyon anneden perinatal olarak alındığında, enterositlerle kan dolaşımına taşınır. Hastalığın ilerlemesi, yüksek bakteremiye bağlıdır (79).

2.4.5. Patofizyoloji

Konak yanıtı ve **etken** arasında gelişen olaylar bütününe içeren sepsis patofizyolojisi oldukça karmaşıktır. Nötrofil, monosit, makrofaj hücreleri ve bu hücrelerden salınan mediatörler gibi bileşenleri ile **immün sistem** ana rolü oynamaktadır. Bunun yanında koagülasyon sistemi, nöroendokrin sistem gibi biyolojik süreçler konak yanıtının diğer unsurlarını oluşturmaktadır (12,82).

2.4.5.1. Konak Yanıtı

Sepsis, travma gibi vücutta stresin arttığı durumlarda stres cevabını ve immun sistem, hipotalamohipofizoadrenal aks (HHA), otonom sinir sistemi olmak üzere üç ana sistem belirler (83).

İmmun Sistem

Konak bütünlüğünün bozulması ve mikroorganizmanın vücuda girmesi ile öncelikle bölgesel doğal yanıt unsurları aktive olur. Defensinler, kompleman komponentleri ve interferonlar gibi çözünür antimikrobiyal proteinler ile etken yok edilmeye çalışılır ancak yok edilemez ise doğal yanıtın diğer bileşeni olan nötrofil ve makrofaj hücreleri aktive olur, etken fagositoz yolu ile elimine edilir. Bu hücreler aktive olduklarında sitokinler ve kemokinler aracılığı ile bölgedeki vasküler yatağın akımını artırırılar. Sonuçta eğer bu yanıtlar yeterli olmaz ise B ve T lenfositler aracılığı ile antijene özgül immun yanıt aktive olur (84).

Bir patojen, konağın doğal bariyerlerini aşır vücuda girdiğinde, doğal bağışıklık sistemini, Patogen-Associated Molecular Patterns (PAMP) olarak bilinen ve patojenden salınan moleküler kalıplar vasıtasıyla aktive eder. Doğal bağışıklık sisteminin hücre yüzeyinde ifade edilen kalıp tanıma reseptörlerine (Pattern Recognition Receptors-PRR) PAMP' lerin bağlanmasıyla inflamatuvar yanıt tetiklenir. Ayrıca, patojenlerin yol açtığı hücre hasarı ve apoptoz, PRR' ye bağlanan diğer bir protein olan ve enflamasyonun tetiklenmesini arttıran hasar ilişkili moleküler patern proteini (Damage Associated Molecular Pattern -DAMP) adlı moleküllerin salınımını da indükler. Sepsisin ilk evresinde; doğal immün sistemin PAMP' ler ve DAMP ler tarafından sistemik olarak aktivasyonu, "sitokin fırtınası" olarak bilinen IL-1, IL-6, TNF- α gibi inflamatuvar sitokinlerin aşırı salınması sonucu hiperenflamasyon görülür (85,86).

Sepsisin geç fazında ise pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlerin arasındaki dengesizlik nedeni ile apoptoz ve immün disfonksiyon oluşmakta, konağın aşırı yanıtı ile organ yetmezlikleri gelişmektedir.

Nötrofiller; Vücudun ana savunma hattıdır ve konak hasarı yanıtında ilk görev alan hücrelerdir. Kemik iliğinden granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ve granülosit-makrofaj CSF'nin (GM-CSF) uyarısı ile üretilirler. Sepsis sırasında, TNF- α , IL -1, IL-6 ve IL-17 gibi proenflamatuvar sitokinler ve bakteri ürünleri, nötrofil üretimini uyaran G-CSF seviyesini artırmaktadır. Vücutta enflamasyon olmadığı durumda dolaşımdaki nötrofillerin ömrü 7-12 saat kadardır. Ancak sepsis esnasında ömrü uzar. Nötrofillerin yüzeyinde çok sayıda reseptör vardır. Antimikrobiyal protein içeren çok sayıda granüllere sahiptirler.

En önemli görevleri, hasarlı bölgeye göç, fagositoz ve sitokin salınımıdır. Nötrofil göçünün dört farklı evresi vardır: Mobilizasyon, göç, yuvarlanma, yapışma ve damar duvarı üzerinden geçiştir. Bu evrelerin hepsi sepsis sırasında etkilenmektedir ve nötrofil migrasyon bozukluğu sepsiste kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. (87).

Monosit-Makrofaj Hücreleri; Kanda monosit dokuda makrofaj şeklinde bulunan hücrelerdir. Yüzeylerinde uyarılmasını sağlayan sitokin reseptörleri, CD4 T hücrelerine antijen sunumu için MHC II proteinleri, fagositozu kolaylaştıran opsonin reseptörleri bulunmaktadır. Bulundukları dokulara göre kendilerine özgü özellikleri de olan makrofajlar klasik doğal immünitenin bir parçasıdır. Doku homeostazisi ve rejenerasyonunda da yer alan doku makrofajları asıl olarak immün sistem için önemli

görevlerini oluştururlar. Akut inflamasyonda ilk 6-24 saatte inflamasyon bölgesinde hâkim olan nötrofiller 24-48 saat sonra yerini monositlere bırakır (88).

Lenfositler; Lenfositler (B ve T), kemik iliğinde lenfoid öncül hücrelerden köken alırlar. B lenfosit santral lenfoid organ olan kemik iliğinde; T lenfosit ise timusta lenfositlerin tüm özelliklerini kazanırlar.

Morfolojik olarak tüm lenfositler birbirine benzemektedir ancak fonksiyonları ve fenotipik özellikleri ile birbirlerinden ayrılan T lenfosit (hücresel immünite), B lenfosit (humoral immünite) ve doğal öldürücü hücre (NK) (doğal immünite) olmak üzere üç lenfosit grubu vardır.

T Lenfositler; Kemik iliğinden timusa gelerek antijen reseptörünü (T Hücre Reseptörü, TCR), kazanıp, pozitif ve negatif seleksiyon (self antijenleri yabancı olandan ayırt etme yeteneği) safhalarını geçirdikten sonra olgun T hücreler (CD4+T lenfosit ve CD8+T lenfosit) olarak periferik dolaşıma geçerler. Periferik kandaki lenfositlerinin yaklaşık %70 kadarı CD4+T yardımcı (Th, T helper), %25 kadarı ise CD8+T sitotoksik (Tc) lenfositlerdir. Tüm T lenfositlerin yüzeylerinde CD3 molekülü bulunmaktadır.

T hücrelerin aktifleşmesi için uygun şekilde sunulan antijeni tanıması gereklidir. T lenfositler antijeni TCR ile tanırlar. CD4+ T hücrelerin salgıladıkları sitokinlere ve fonksiyonlarına göre iki alt tipi (Th1 ve Th2) bulunmaktadır. Th1 hücreleri IFN γ , IL-2 ve TNF- α ile makrofaj aktivasyonu, fagositoz ve bakteriyel öldürme fonksiyonlarına etki ederek hücre içi patojenlerin temizlenmesini sağlar. Th2 hücreler IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 salgılar. IL-4 ve IL-13, IgE antikor üretimini uyarırlar. IL-5 ile eozinofiller aktive edilerek parazitlerin öldürülmesi sağlanır. Böylece Th2 hücreler, hücre dışı patojenlere karşı savunmada ve allerjik durumlarda aktiftir. Her iki hücre grubu ürettikleri sitokinlerle karşılıklı birbirlerini kontrol altında tutarlar (89).

B lenfositler; Lenfoid öncül hücreden köken alırlar ve gelişmeleri antijenik bir uyarı olmadan kemik iliğinde başlar. Erken progenitor hücrelerden; pre-B, immatur B, matur B dönemlerini geçirerek olgun B lenfositler oluşur. İmmatur B lenfositleri kemik iliğinde iken fonksiyonel yüzey immünglobulin M molekülü kazanırlar. Periferik dolaşımdan periferik lenfoid dokulara (lenf bezi, dalak ve mukoza ilişkili lenfoid dokular (MALT) göç ederler. Periferik dolaşımda olgun B lenfositler %20-30 oranında bulunur. Yaşamları yüzey IgM ve CD19 ilişkili uyarılara bağlıdır.

B lenfositler yüzeyde antijene spesifik reseptör olan B hücre reseptörü (BCR) taşırlar. BCR, antijen bağlayan immunglobulindir ve B hücre aktivasyonunda anahtar rol oynar.

Ayrıca yüzeylerinde MHC sınıf I ve sınıf II molekülleri, CD20, Komplemanın C3d komponenti için spesifik reseptör (CR2) ve moleküller dışında hormonlar, mitojenler ve sitokinler için reseptörler bulunmaktadır. Uyarıldıklarında IgM salgırlar (87).

Doğal öldürücü (Natural killer- NK); hücreler ve CD4/CD8 T lenfositler tarafından üretilen Interferon- γ (IFN- γ) ile aktive olurlar ve fagosit edilmiş bakteriyi öldürürler (86).

2.4.5.2. Normal Konakta Enflamatuvar Yanıt

Vücutta epitel bariyerini geçip dokuya ulaşan mikroorganizma, lokal savunma faktörleri tarafından karşılanır. Bu faktörler lokal inflamasyon, damar geçirgenliğinde ve bölgeye kan akımında artışa neden olurlar. Lokal yanıtlar ile sınırlandırılmayan mikroorganizma ise sistemik dolaşıma geçer ve sistemik yanıt devreye girer. **Akut Faz Yanıtı** olarak adlandırılan bu durum; adrenalin ve kortizol salınımı ile pro-inflamatuvar sitokinlerin salınması, kemik iliğinden nötrofil salınımının artırılması gibi süreçler ile Pro-inflamatuvar yanıt, artmış inflamatuvar yanıtın oluşturacağı muhtemel hasarı önlemeye yönelik Anti-inflamatuvar yanıt, enflamasyonun indüklediği endotel hasarı ve yüzeyden salınan doku faktörü aracılığı ile Prokoagülan yanıt, TNF- α ve IL-6 gibi pirojen sitokinler aracılığı ile oluşan Termoregülatuar yanıt ve kan şekerinin düzenlenmesi, kas yıkımı ve glukoneogenez gibi olayları ile Metabolik yanıt unsurlarını içerir (89,90).

Sistemik Enflamatuvar yanıtın santral sinir sistemi tarafından kontrolü; Hipotalamo-hipofizer aks (HPA), otonom sinir sistemi ve hipotalamik termoregülatuar merkez aracılığı ile sağlanır. Dolaşımda artmış miktarda bulunan IL-1, TNF- α , IL-6 gibi mediatörler kan beyin bariyerini geçerek bu üç merkezi uyarırlar (86).

2.4.5.3. Hasarlı Konakta Enflamatuvar Yanıt

20. yüzyılın ikinci yarısına kadar, sepsisin patogeneğinde asıl etkenin mikroorganizmanın yayılımı olduğu düşünülmekte iken yapılan çalışmalar sonucu sepsise neden olan etkenlerin makrofaj aktivasyonu ve TNF- α ve diğer mediatörlerin salınımı olduğu görülmüştür (25).

Bakteri hücre duvarında bulunan endotoksin gibi antijenik yapılar, güçlü mediatörlerin salınımını uyarmaktadırlar. TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 ve trombosit aktive edici faktör (PAF) bunların en önemlileridir. Ayrıca TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler, koagülasyon sistemini aktive etmekte ve fibrinolizi inhibe etmektedir. Sonuçta oluşan trombin ise prokoagülan aktivitesinden dolayı vücutta artmış inflamatuvar süreci başlatmaktadır. Endotel hasarına neden olarak, tromboza eğilimi artırmakta ve mikrovasküler disfonksiyon oluşmaktadır. Sonuçta doku perfüzyonu bozulur (8,91).

Sepsis tanısı alan hastalarda birkaç saat içerisinde immünsupresyon gelişebilmektedir. Bu durumun sitokinler arasındaki dengesizlik ve immün sistem hücrelerinde artmış apoptoza bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle akciğer enfeksiyonları başta olmak üzere sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlara yatkınlık oluşmaktadır. Ayrıca 14 günden uzun süre kronik kritik hastalık gelişen septik hastalarda, kalıcı inflamasyon, immünsupresyon ve katabolizma sendromu (PICS) gelişebilmektedir. Bu durum, sepsis sonrası 2 yıl için ~%20-40 mortalite oranı ile ilişkilidir (92,93).

2.4.6. Klinik

Sepsisli hastalarda mevcut klinik tablodan büyük oranda, artmış sitokinler sorumludur.

Sepsisli hastaların büyük çoğunluğunda ateş yüksektir ancak hipotermi veya normal vücut sıcaklığı da görülebilir. Hipotansiyon, oligüri, trombositopeni, lökopeni veya lökositoz görülebilir (94).

Ciltte kuruluk, sarılık, açık yaralar görülebilir.

Santral sinir sisteminde primer tutulum olmasa bile ciddi ödem oluşabilir. Oryantasyon bozukluğu, letarji şeklinde görülür. Özellikle yaşlı hastalarda şuur değişikliği sepsisin erken bulgusu olabilir. Görüntüleme tetkiklerinde beyin anatomik olarak normaldir. Sepsis kliniği düzelince şuur değişikliği de düzelir.

Sepsisteki hastalarda myokardiyal disfonksiyon görülebilmektedir. Sepsisin erken döneminde sol ve sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda artma, diastolik volümlerde artma gözlenir. Erken hiperdinamik fazda periferik vazodilatasyon olur ve perfüzyon genelde bozulmaz. Şok döneminde ise hipotansiyon taşikardi ve organ perfüzyonunda bozulmalar gözlenir. Tedavi edilmediği durumda organ yetmezliği ve ölüm gelişir. Kapaklarda vejetasyon veya apseler görülebilir. İnterstisyel miyokardit (genellikle sağ

ventrikülün subendokardiyal bölgesinde), interstisyel ödem, koagülasyon nekrozu, duvar trombüsü, miyokard kanamaları histolojik olarak, sepsisli hastalarda tanımlanmıştır (20,95).

Periferik kan hücrelerinde; bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarda nötrofil artışı izlenir ancak ağır sepsisteki hastalarda NK hücreler ve CD4 ve CD8 hücrelerde azalma olur. Dolaşımdaki B lenfositlerin sayısı artmıştır. Trombositopeni, ağır sepsiste sık rastlanan bir bulgudur. Yaygın damar içi pıhtılaşma durumunun bir parçası olabileceği gibi tek başına da olabilir. Latent Herpes simplex ve sitomegalovirus enfeksiyonlarının reaktivasyonu ağır sepsisli hastalarda görülebilir (95).

Kan glukozu sepsisteki hastalarda genellikle yüksek ölçülür. Sebebi ise akut metabolik cevap nedeni ile glukoneogenez, glukogenoliz ve insülin direnci gelişmesindendir. Hipoglisemi çoğunlukla karaciğer, böbrek hastalığı veya malnutrisyonu olan hastalarda görülür.

Sepsisteki hastalarda şok olmadığı dönemde bile kan laktat seviyesinde artış olur. Karaciğer laktat klirensinde bozulma ve sepsiste oluşan mitokondriyal disfonksiyon neden olmaktadır.

Yaygın damar içi pıhtılaşma (Dissemine Intravascular Coagulation- DIC) tablosunun en sık nedeni sepsistir. Trombositopeni, damar içi trombin oluşumu, fibrin birikimi, pıhtılaşma faktörlerinde azalma ve fibrinoliz ile karakterizedir. Gram negatif bakteri sepsislerinde görülme sıklığı daha fazladır (90,95).

Akciğerlerde diffüz alveoler infiltrasyonlar olabilir. Hiperventilasyon sepsisin en erken belirtilerinden birisidir ve alkaloz gözlenir. Pnömoniye takiben sepsis olabileceği gibi bakteriyemi sonucunda diffüz pnömoni gelişebilir. Bilateral infiltrasyon ve hipoksemi ($Pao_2/Fio_2 < 300$) varlığında (pnömoni ve kalp yetmezliği olmaması şartıyla) akciğer hasarı tanısı konur. Ağır hipoksemi var ise ($Pao_2/Fio_2 < 200$) akut solunum yetmezliği sendromu (ARDS) olarak değerlendirilir. Ve gram negatif sepsislerde daha sık görülür. ARDS de akciğerin kompliyansı azalır, su hacmi artar. Hipoksi, hava açlığı, siyanoz görülür. ARDS tablosu düzelen hastalarda iyileşme sonrası önemli ölçüde fonksiyonel yetmezlik gelişir (96).

Renal disfonksiyon, sepsiste minimal proteinüriden ağır böbrek yetmezliği tablosuna kadar herhangi bir klinikte görülebilir. Hipovolemi, hipotansiyon, renal

vazokonstriksiyon, ilaçlara bağlı nefrotoksisite nedeni ile görülür. Sepsiste hipotansiyon olması ile beraber oligüri izlenir. Şok durumu ile de anüriye kadar giden böbrek fonksiyon kaybı olmaktadır. Ayrıca bazı hastalarda septik şok gelişmeden glomerül kaynaklı böbrek yetmezliği görülebilmektedir. Bakteriyel endokardit veya diğer pyojenik organ enfeksiyonlarında olabilir. Sepsis ile ilişkili böbrek yetmezliği genellikle geri dönüşlüdür (97).

Gastrointestinal sistemde perfüzyon azalmaktadır. Bu durum periferik vazodilatasyon olması nedeni ile kan akımının dağılımında oluşan değişime bağlıdır. Ayrıca ileus da görülür. Septik şokta mortalite, doku hipoperfüzyonunun derecesi ile yakından ilişkilidir. Bağırsaklarda hipoperfüzyon sonucu oluşan mukozal hasarı neticesinde bariyer fonksiyon bozulur ve bakteri translokasyonu olur. Üst gastrointestinal sistemdeki içeriğin trakeobronşial aspirasyonu sonrası pnömoni gelişebilir.

Karaciğer fonksiyon testleri ağır sepsisteki hastalarda artmış olarak ölçülür ancak ağır karaciğer yetmezliği sık görülmez (90).

Sepsisteki hastalarda adrenal yetmezlik de görülebilir. En sık bulgu hiptansiyon ve hipoglisemidir. Adrenal bez veya hipofiz bezinde kanlanma bozukluğuna bağlı anatomik hasara bağlı veya sitokinlerin etkisi ile disfonksiyon oluşabilir. Kullanılan ilaçlar steroid metabolizmasını artırabilir veya hücresel düzeyde glukokortikoid cevapsızlığı oluşabilir (18).

2.4.7. Tedavi

Sepsis tedavisinde ana strateji; hemodinamik destek, solunum desteği, enfeksiyon kaynağının kontrolü, antimikrobiyal ilaçların zamanında ve uygun kullanımı ve diğer organ destekleyici fizyolojik önlemlerdir. Proenflamatuar medyatörlere karşı geliştirilen yeni ilaçlarla inflamatuvar yanıtın baskılanması girişimleri başarısız olmuştur. Aktive protein C ve düşük doz glukokortikoidlerin kullanımının, immünmodülatör etki ile şiddetli sepsisteki hastaların sonuçlarını iyileştirdiği gösterilmiştir (98). Sepsisli hastalarda erken tanı ve tedavi organ yetmezliğini azaltmakta ve sağ kalımı arttırmaktadır. Güncel klavuzlar sepsisteki hastada erken tanı ve tedavinin önemini ısrarla vurgulamaktadır (1,2,99). Buna göre başvuruyu takip eden ilk 3 saatte yapılması gerekenler şunlardır:

- Serum laktat düzeyi ölçümleri yapılmalı

- Kan kültürlerinin alınmasından sonra antibiyotik başlanmalı
- Geniş spektrumlu antibiyotik ile tedaviye başlanmalı
- Hipotansiyon veya laktat düzeyi yüksek olması (≥ 4 mmol/L) durumunda 30 ml/kg kristalloid başlanmalı

Başvuruyu takip eden ilk 6 saatte yapılması gerekenler şunlardır:

- Sıvı tedavisine rağmen devam eden hipotansiyon durumunda, ortalama arteriyel basıncı 65 mmHg ve üzerinde tutmak için vazopressör başlanmalı
- Sıvı tedavisine dirençli hipotansiyonda veya laktat yüksekliğinde (≥ 4 mmol/L) intravasküler hacim durumu ve doku perfüzyonu yeniden değerlendirilmeli (fizik muayene, santral venöz basınç ölçümü, yatak başı kardiyak ultrason, pasif bacak kaldırma testi)
- Yükselme varsa tekrarlayan laktat ölçümleri yapılmalı

Enfeksiyon Kaynağının Saptanması ve Ortadan Kaldırılması

Sepsis tedavisinin en önemli basamağı, mümkün olan en kısa sürede enfeksiyon kaynağının saptanması ve ortadan kaldırılmasıdır. Kateterler değerlendirilmeli ve enfekte olan kataterler çekilmeli, intraabdominal enfeksiyonlar gerekirse cerrahi olarak kontrol edilmeli, uygunsa perkütan olarak drene edilmelidir (99).

Antimikrobiyal Tedavi

Sepsisin erken tanısı ve uygun antibiyotiklerin 1 saat içinde başlanması, hasta için hayati öneme sahiptir, çünkü mikrobiyal yük, sepsisin hatta şokun temel kaynağıdır. Mikrobiyal yükün eradikasyon süresi hastanın hayatta kalma oranını belirlemektedir. Bu nedenle, uygun antimikrobiyal tedavinin gecikmesi, hastaların mortalitesi üzerinde çok etkilidir. Antimikrobiyal tedavide gecikme her saat için artmış %7,6 gibi bir mortalite oranına sahiptir (100,101).

Enfeksiyonun kaynağı (toplum kaynaklı veya sağlık hizmeti ilişkili), antibiyotik kullanım öyküsü, yaşanan bölgedeki direnç oranları ve kolonizasyon, ampirik tedavi başlanmadan göz önünde bulundurulması gereken durumlardır. Ampirik antibiyotik tedavisi mümkün olan en kısa sürede başlanmalı, kültür sonuçlarına göre tekrar değerlendirilmeli ve gerekirse spektrum daraltılmalıdır. Ayrıca, kültürlerin kontamine

olması veya antimikrobiyal tedaviden sonra alınmış kültürler (yanlış negatif sonuçlar) antimikrobiyal tedavinin yönetiminde zorluk oluşturmaktadır (6).

Hemodinamik Destek

Sıvı tedavisini ve vazopresör tedaviyi kapsamaktadır. Sıvı tedavisinde asıl amaç damar içi volümü doldurmak ve sıvı açığını kapatmaktır. Böylece doku perfüzyonunda ve kardiyak fonksiyonlarda iyileşme beklenmektedir.

Sıvı desteği ile birlikte arteriyel kan basıncı, kalp hızı ve idrar debisi gözlenmelidir. Kullanılacak sıvılarda kristalloid veya kolloid seçimi halen tartışmalı bir konudur (1). İlk tercih kristalloidler olmaktadır, en sık serum fizyolojik kullanılmaktadır. Ancak aşırı yüklenmelerde salin infüzyonunun hiperkloremik metabolik asidoza neden olabilmektedir. Bu durumda kolloid sıvılar verilebilir. Bu solüsyonlar büyük oranda intravasküler alanda kalırlar üçüncü boşluğa veya interstisyel alana geçmezler. Yüksek miktarda kristalloid ihtiyacı olan hastalarda albümin de kullanılabilir.

Sıvı tedavisine rağmen yeterli hemodinamik yanıtın sağlanamadığı durumlarda vazopressör tedavi gerekebilir. İlk tercih edilecek ajan norepinefrindir (1). Dopaminin pozitif inotrop ve kronotrop etkileri nedeniyle miyokard oksijen ihtiyacını arttırmamasından dolayı, öncelikli tedavi seçeneklerinden değildir. Kötü sol ventrikül kontraktilitesi ve düşük kalp debisi olan hastalarda dobutamin ve dirençli hipotansiyon varlığında vazopressin de kullanılabilir.

Destekleyici Tedaviler

Etkinlikleri tartışmalı olmakla birlikte, çeşitli ek tedaviler de vardır.

Steroidler: Güncel klavuzlarda, yeterli sıvı tedavisine rağmen vazopressör ihtiyacı olan hastalarda intravenöz kortikosteroid kullanımını önerilmektedir.

Kan glukozu kontrolü: Sepsisli hastalarda hiperglisemi sık görülen bir durumdur. Yüksek kan glikoz seviyesi, kardiyovasküler olaylar, trombozis, geç kalınmış tedavi gibi olumsuz durumların artışıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir ancak kan glukoz düzeyinin 80-110 mg/dL arasında tutulmasının, mortaliteyi, enfeksiyon hızını, hastanede kalış süresini ya da renal replasman ihtiyacını azalttığına dair kanıt da bulunmamaktadır. Kritik hastalarda kan glukoz düzeyinin 140-200 mg/dL arasında tutulması önerilmektedir.

Kan ürünleri desteği: Sıvı tedavisi ile doku hipoperfüzyonu düzeltilmişse ve miyokardial iskemi, şiddetli hipoksemi, akut kanama ya da iskemik koroner arter hastalığı gibi durumlar yoksa, hemogloblin düzeyi 7 g/dL'nin altına düşmediği sürece kan transfüzyonu yapılmamalıdır. Trombosit desteği, kanama yoksa $<10\ 000/\text{mm}^3$, ciddi kanama riski söz konusu ise $<20\ 000/\text{mm}^3$ olduğu durumunda verilmelidir. Aktif kanama durumunda, cerrahi veya invaziv girişimlerde $>50\ 000/\text{mm}^3$ platelet sayısı gerekmektedir.

Derin ven trombozu için profilaksi: Şiddetli sepsisteki hastalarda günde iki kez düşük molekül ağırlıklı heparin kullanımı önerilmektedir.

Ekstrakorporeal kan temizleme desteği: Kan temizleme tekniklerinin kritik hastalardaki kullanımları “çoklu organ desteği tedavisi” olarak adlandırılmaktadır. Henüz yüksek volüm hemofiltrasyonun yararlı etkilerini gösteren geniş, çok merkezli, randomize, kontrollü, yüksek düzey kanıt içeren çalışmalar mevcut değildir ancak insanlardaki ön çalışmalar ve hayvan çalışmaları verileri bu girişimi desteklemektedir.

Koruyucu akciğer stratejileri, ECCO2R ve ECMO: Düşük tidal hacimli ventilasyon (plato basıncı $<30\ \text{cmH}_2\text{O}$, 6 mL/kg), ventilatör ilişkili akciğer hasarına karşı koruma sağlar. Koruyucu akciğer stratejileri başarısız olduğu zaman ekstrakorporeal CO_2 uzaklaştırma ve venö-venöz ekstrakorporeal membran oksijenasyonu gibi çeşitli teknolojiler gelişme göstermektedir (1).

2.5. Deneysel Sepsis Modelleri

Sepsis patofizyolojisinin karmaşıklığı, etkilenen popülasyonun heterojenitesi, kesin tanı ölçütlerinin bulunmaması ve etik olarak uygun olmaması nedeniyle insanlardaki sepsis araştırmaları zordur. Daha uygun maliyetli ve değerli araştırma araçları olarak, hayvanlarda sepsis modelleri oluşturulmuştur. Deney hayvanında oluşturulan sepsis modelleri, hastalığın mekanizmalarını aydınlatmak için fırsat sağlar, tedavi amaçlı müdahalenin kapasitesini ve spesifik yaklaşımlarını özetlerler (72).

Laboratuvar hayvanlarında sepsis oluşturma modelleri cerrahi ve cerrahi olmayan yöntemler olarak sınıflanmaktadır.

Bakteri inokülasyonu: Damar yolu veya periton içine bakteri süspansiyonunun inokülasyonu ile sepsis oluşturulması.

Cerrahi modeller: Çekal bağlama ve delme yöntemi, çıkan kolona stent yerleştirip peritonit ve sepsis oluşturulması ve periton içerisine mikroorganizmanın direk inokule edilmesi yöntemi yer almaktadır.

Bakteriyel toksin inokülasyonu: Damar yolundan lipopolisakkarid (LPS) uygulanması ile sepsis kliniği oluşturulması.

Cerrahi yöntemlerde önce peritonit olur ve sonrasında sepsis gelişir. Cerrahi olmayan yöntemler endotoksemi araştırmalarında kullanılmakta olup kardiyovasküler kollapsa neden olduğu için sepsis patofizyolojisinde kullanımı sınırlıdır (72). Bu çalışmada *E. coli* ve *A. baumannii* sepsisinde adrenal tutulum değerlendirmeyi amaçlandığı için intraperitoneal mikroorganizma inokülasyonu yöntemi kullanılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

“Karbapenem dirençli *A. baumannii* sepsisinde adrenal tutulumun değerlendirilmesi “ başlıklı çalışma Şubat 2017 ile Ekim 2017 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde yapıldı. Bu çalışma için, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan onay alındı (Karar tarihi:08.07.2015 Karar no:15/93).

Bu çalışmada, deneysel olarak Karbapeneme dirençli ve duyarlı *A. baumannii* suşları ile sepsis oluşturmak, dirençli ve duyarlı suşlar ile oluşturulan sepsisli farelerde adrenal fonksiyonu ve histopatolojik değişiklikleri gözlemek ve karşılaştırmak hedeflendi. Ayrıca standart suş olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanıldı. Standart *E. coli* suşu ile oluşturulan sepsislerde adrenal fonksiyonları, histopatolojik ve inflamatuvar değişiklikleri kıyaslamak hedeflendi. Bu amaçla deneye alınan farelerde, adrenal bezin ağırlığı ve hacmi ölçüldü, adrenal bezde histopatolojik değişiklikler incelenerek, kalp, akciğer, karaciğer ve adrenal bez dokularında bakteriyel yük kantitatif olarak hesaplanması, kanda bazal kortikosteron, TNF- α ve IL-6 düzeylerinin ölçülmesi planlandı.

3.1. Deney Hayvanı

Deneyde, 6 aylık, 30-40g ağırlığında 60 adet BALB/c erişkin dişi fareler kullanıldı. Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi’nden temin edildi ve deney boyunca burada barınmaları sağlandı. Fareler, eni 25 cm, boyu 40 cm ve derinliği 16 cm olan, üzerinde paslanmaz çelikten kafes teli bulunan kafeslerde beslendi ve ad libitum su ve yeme ulaşması sağlandı. Farelerin bulunduğu ortam 12

saatlik gece ve gündüz olacak şekilde ışıklandırıldı ve oda sıcaklığı 24 °C (20-25) olacak şekilde ayarlandı.

3.2. Deneyde Kullanılan Bakteri Suşları

Çalışmada karbapeneme duyarlı ATCC 17978 *A. baumannii* ve karbapeneme dirençli *A. baumannii* (OXA-51, OXA-58, PER-1 pozitif) ve ATCC 25922 *Escherichia coli*, suşları kullanıldı. Bakteriler Genkök Moleküler Mikrobiyoloji Birimi’nden temin edildi.

3.3. Bakteri Süspansiyonunun Hazırlanması

Kanlı agara ekim yapılarak üretilen ve saflaştırılan karbapenem dirençli *A. baumannii* ve *E. coli* kolonilerinden Triptik Soy Agara (TSA) pasaj yapılarak 37 °C de 18-24 saat inkübe edildi. Inkubasyon sonrası üreyen kolonilerden  ze ile alınarak içerisinde steril serum fizyolojik bulunan tüplere farklı konsantrasyonlarda olacak şekilde bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bakteri süspansiyonu için farklı konsantrasyonlar 600 nm.’de 0.257 absorbandsda UV/Vis. Spektrofotometre (Boeco, Germany) kullanılarak ayarlandı. Her deneyde, bir gece önceki pasajda üreyen bakteri kolonilerinden hazırlanan aynı konsantrasyonda taze bakteri süspansiyonu kullanıldı.

3.4. Sepsis Oluşturan Enfeksiyon Dozunun (inokulum dozu) Belirlenmesi

Balb-c farelerde sepsis oluşturan inokulum dozunun belirlenmesi için bir  n çalışma ile farklı konsantrasyonlarda bakteri süspansiyonları, 8 adet 6 aylık fareye intraperitoneal yolla verildi. Bu amaçla hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki bakteri süspansiyonlarından 0.1 ml. her grup için 2’şer fareye enjekte edildi. Negatif kontrol grubu olarak ise 0.1 ml. serum fizyolojik 2 fareye verildi. Farelerde sistemik klinik belirtiler takip edildi. İnokulasyondan 72 saat sonra sakrifiye edilerek akciğer, karaciğer, kalp ve sa  adrenal bezden Triptik Soy Agara ekim yapıldı. Bu ekimler 18-24 saat 37 °C’lik inkubasyonu takiben üremeler kontrol edildi, iki ve daha fazla organın kültüründe üreme olması sepsis olarak kabul edildi. Yapılan bu  n çalışma sonucunda karbapeneme duyarlı *A. baumannii* için “4x10⁸” kob/ml (koloni oluşturan birim/ml), karbapeneme dirençli *A. baumannii* için “3x10⁸” kob/ml, *E. coli* için ise “10⁸” kob /ml farelerde sepsis oluşturan inokulum dozu olarak belirlendi.

3.5. İn vivo çalışma

Çalışmada her bir grupta 15'er fare olacak şekilde Karbapeneme duyarlı *A. baumannii* sepsisi oluşturulacak grup (KSAB), Karbapeneme dirençli *A. baumannii* sepsisi oluşturulacak grup (KRAB), *E. coli* sepsisi oluşturulacak grup (EC) ve kontrol grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Sepsis gruplarına ön çalışma ile belirlenen dozlarda bakteri süspansiyonundan 0.1 ml *ip* yolla inokule edildi. Fareler, her 12 saatte bir kontrol edilerek hedeflenen diseksiyon zamanından önce sepsis dolayısı ile ölüm açısından değerlendirildi. Kontrol grubundaki farelere ise yalnızca 0.1 ml. serum fizyolojik verildi. Karbapenem dirençli *A. baumannii* grubundan iki adet fare, inokulasyon sonrası 24. saatte öldükleri için deneyden çıkarıldı (Tablo 4).

Tablo 4. Deney grupları ve deneyin yapılışı

Gruplar	<i>İp</i> Uygulama	72. saat
Grup 1 KSAB (n=15)	4x10 ⁸ kob/ml (0.1 ml)	Sakrifikasyon
Grup 2 KRAB (n=13)	3x10 ⁸ kob/ml (0.1 ml)	Sakrifikasyon
Grup 3 EC (n=15)	10 ⁸ kob/ml (0.1 ml)	Sakrifikasyon
Grup 4 K (n=15)	SF (0.1 ml)	Sakrifikasyon

KSAB: Karbapeneme duyarlı *A. baumannii*, KRAB: Karbapeneme dirençli *A. baumannii*, EC: *E. coli*, K: Kontrol, *ip*: periton içi

Bakteri inokulasyondan 72 saat sonra tüm gruplara ketamin 100 mg/kg (Ketalar® 50 mg/ml flakon, Pfizer) ve 10 mg/kg xylazin (Xylazin bio %2® 20 mg/ml flakon, Bioveta) *ip* yolla verildikten sonra sakrifikasyon yapıldı. Farelerin akciğer, karaciğer, kalp ve sağ adrenal bezden kültür örnekleri alındı ve Triptik Soy Agara ekimleri yapıldı. Farelerde sepsis gelişip gelişmediği kontrol edildi. Ayrıca sağ adrenal bezden homojenizat hazırlanarak on katlı seri dilüsyon yapılarak kültüre edildi. Üreyen koloniler, 37 °C'de 18-24 saat inkübasyon sonrası sayılarak bakteri yükü cfu/gr olarak hesaplandı.

3.6. Histopatoloji

Farelerden alınan böbrek üstü bezleri hemen %10 nötral tamponlu formalin solüsyona konuldu. 24 saatlik tesbit sonrasında böbrek üstü bezlerine rutin doku takip işlemi

uygulanarak tüm dokular parafinde bloklandı ve hazırlanan 5 mikrometre kalınlıkta kesitler hematoxilen eozin ile boyanarak ışık mikroskopta incelendi. Kesitlerde böbrek üstü bezinin tüm katlarının görülemediği durumlarda parafin bloklardan kesitler tekrarlanarak tüm katlar görülene kadar dokunun derin kesimleri incelendi.

Mikroskopik incelemede böbrek üstü bezinin korteksine ait üç tabaka ile medulla ayrı ayrı seçilerek değerlendirildi. Tüm tabakalarda konjesyon, nötrofil lökosit infiltrasyonu ve olası diğer değişiklikler arandı. Bulunan değişiklikler, istatistiksel karşılaştırma yapılabilmesi için 0: yok, 1: hafif derecede, 2: orta derecede, 3: şiddetli olacak şekilde semi kantitatif olarak derecelendirilerek kaydedildi.

3.7. Sitokin Analizi

Farelerden alınan kanlar mikrosantrifüj tüpüne aktararak, 4000 devir/dakikada 5 dakika santrifüj edildi ve serumları alındı. Elde edilen serum, çalışma gününe kadar -20 °C’de saklandı. Serum kortikosteron, IL-6 ve TNF- α düzeyleri Enzyme-linked immunosorbent assay (ELİZA) yöntemi (FineTest, Mouse CORT (Corticosterone) ELISA Kit EU3108, Mouse TNF- α (Tumor Necrosis Factor Alpha) ELISA Kit EM0183, Mouse IL-6 (Interleukin 6) ELISA Kit EM0121) ile Genkök Moleküler Mikrobiyoloji laboratuvarında ticari kit prosedürlerine göre çalışıldı. -20 °C’de saklanan serum örnekleri ve kit içinde bulunan sample dilüent buffer’dan eşit miktarda (100 mikrolitre) alındı. Kit prosedürüne göre verilen konsantrasyonda standart solüsyonlar hazırlandı. Kit kuyucuklarına serum örneği ve standart solüsyon önerilen miktarda konularak 90 dk. inkübe edilmiş, inkübasyon sonrası prosedürde önerilen sayıda yıkama işlemi yapıldı. Yıkama sonrasında sırası ile Tris-buffered saline (TBS), Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC), TMP ve stop solusyonları ile prosedür süresince inkübe edildi. Stop solusyonu eklendikten sonra 15 dk. içinde 450 nm absorbanslı okuyucuda (Promega, Glomax^R) okunarak elde edilen değerler kortikosteron için nanogram/mililitre ($\mu\text{g/ml}$), TNF- α ve IL-6 için pikogram/mililitre (pg/ml) olarak kaydedildi.

3.8. İstatistiksel Analiz

Farelerin gruplara göre adrenal bez dokusu kantitatif kültürlerinden elde edilen bakteri sayıları, kan kortikosteron, IL-6, TNF- α düzeyleri ve doku histolojik sınıflandırmaları karşılaştırıldı ve SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak analiz edildi.

Üremelerde en düşük koloni sayısı 20 kob/ml olarak alındı. Adrenal bez dokusunda kantitatif kültür sonuçları ve kan kortikosteron, IL-6, TNF- α düzeyleri gruplarda ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Kantitatif kültür sonuçları gruplar arasındaki fark ($\Delta \log =$ müdahale grubu ortalaması – kontrol grubu ortalaması) hesaplandı. Çalışma ve kontrol grupları arasında fark yok ise işlem etkisiz olarak değerlendirildi. Bakteri koloni sayıları logaritmik olarak düzenlendikten sonra gruplar arasındaki karşılaştırmalar ANOVA ile yapılarak, Kruskal-Wallis One Way Analizi'ne göre anlamlı fark olan gruplarda gruplar arası karşılaştırmada Dunn's Methodu kullanıldı. Karşılaştırmalarda bulunan değer $P < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Değerlendirme

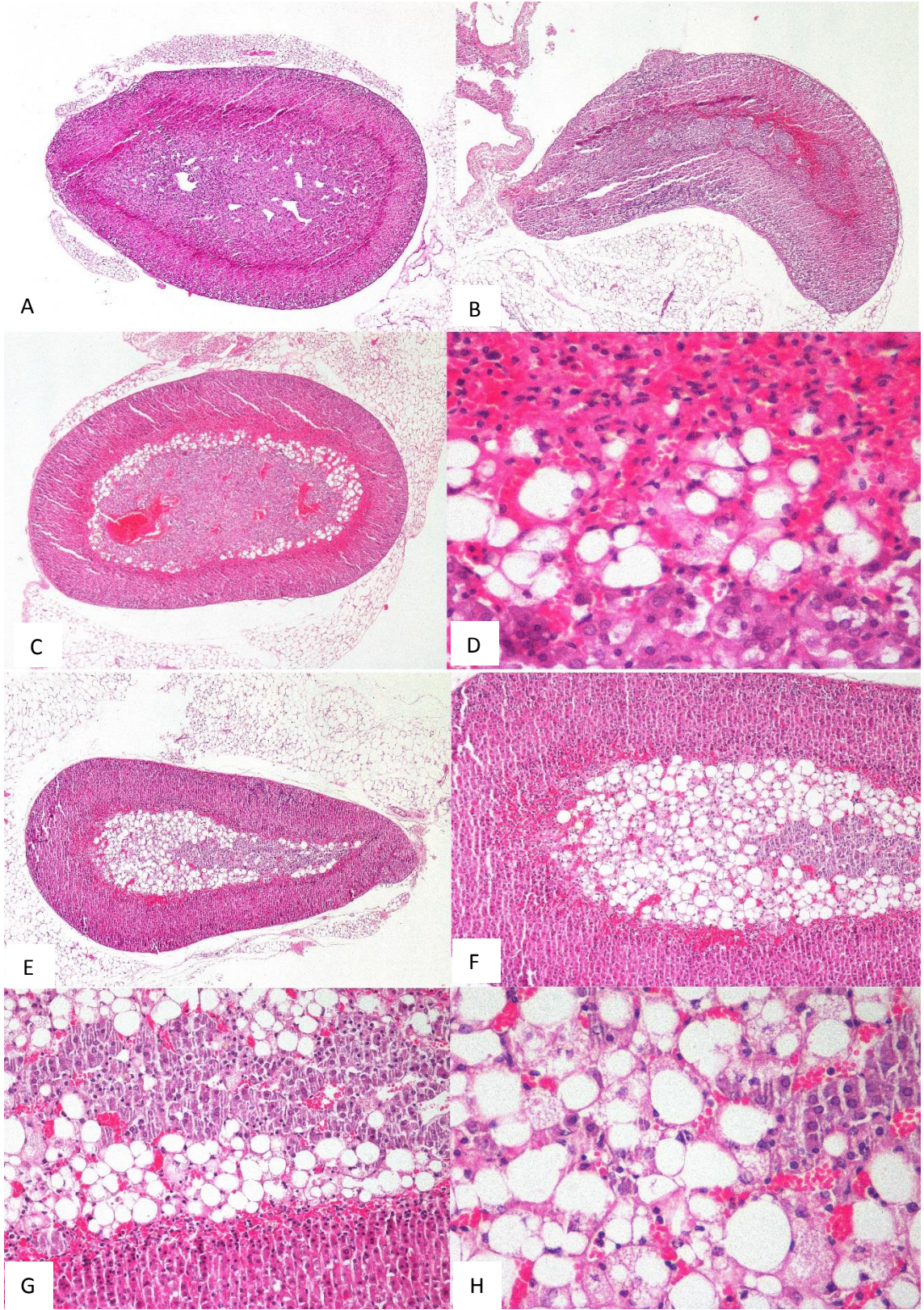
Akut enfeksiyon açısından aranan nötrofil lökosit infiltrasyonuna hiçbir böbrek üstü bezi dokusunda rastlanmadı. Enfeksiyon ile dolaylı olarak ilişkilendirilebilecek konjesyon bulgusu, materyal metod kısmında belirtildiği şekilde derecelendirildi. Histopatolojik değerlendirmeden örnek görüntüler, Şekil 1’de verilmiştir.

Çalışma gruplarında (grup 1, 2 ve 3) adrenal bezin tamamında görülen konjesyon derecesi değerlendirildiğinde, çalışma gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede farklı bulundu ($p<0,005$).

Tablo 5. Grupların Adrenal Bezde Toplam Konjesyon Evre Ortalamaları

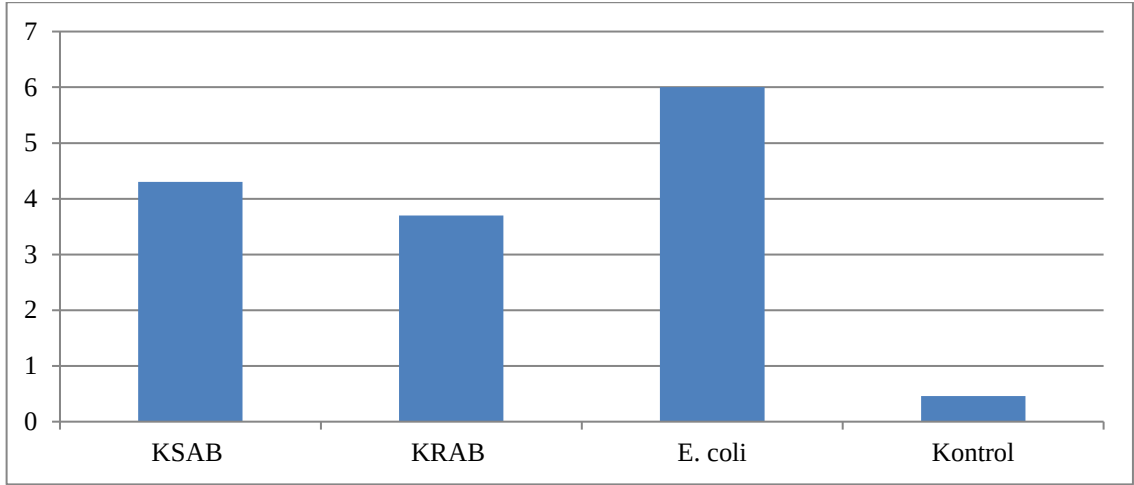
Gruplar	Ortalama $\pm$ standart sapma
Grup 1 KSAB	4,30 $\pm$ 1,70
Grup 2 KRAB	3,73 $\pm$ 2,08
Grup 3 <i>E. coli</i>	6,00 $\pm$ 1,64
Grup 4 Kontrol	0,46 $\pm$ 0,63

Grupların birbiri ile karşılaştırılmasında ise adrenal bezin bütününde konjesyon varlığı, *E. coli* grubunda, KSAB ve KRAB gruplarına göre anlamlı derecede fazla bulundu ($p<0,005$). KSAB ve KRAB grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 5 ve Şekil 2).



Şekil 1. Histopatolojik İnceleme Sonuçlarından Görüntüler

Normal adrenal dokusu: **A** (H-E, x40); Retiküler tabaka hücrelerinde 1/3 şiddetinde konjesyon gösteren adrenal: **B** (H-E, x40); Glomeruloza tabakasında 1/3, fasikülat tabakasında 0/3, retikularis tabakasında 3/3, medullada ise 3/3 şiddette konjesyon, 2/3 şiddette yağlanma gösteren adrenal: **C** (H-E, x40), **D** (H-E, x400); Glomeruloza ve fasikülat tabakalarında 1/3, retikularis tabakasında 2/3 şiddetinde konjesyon, medullada ise 3/3 şiddetinde yağlanma gösteren adrenal: **E** (H-E, x40), **F** (H-E, x100), **G** (H-E, x200), **H** (H-E, x400)



Şekil 2. Gruplara göre adrenal bezde görülen konjesyonun şiddetinin karşılaştırılması

Ayrıca her dört tabakadaki konjesyon dereceleri ayrı ayrı olacak şekilde gruplar arasında karşılaştırıldı (Tablo 6 ve Şekil 3). Elde edilen sonuçlar ise şöyledir:

Glomeruloza tabakasının değerlendirilmesinde karbapenem duyarlı *A. baumannii* (KSAB) verilen ilk grupta, 11 farede glomeruloza tabakasında konjesyon görüldü. Ortalama değer $1,18 \pm 0,6$ olarak hesaplandı. Karbapenem dirençli *A. baumannii* (KRAB) grubunda 2 farede konjesyon izlendi, diğer farelerde glomeruloza tabakası normal olarak değerlendirildi; ortalama değer ise $1,00 \pm 0,00$ olarak bulundu. *E. coli* grubunun değerlendirilmesinde ise, 8 farede konjesyon gözlemlendi. Ortalama değer $1,25 \pm 0,7$ bulundu. Kontrol grubunda 2 farede konjesyon gözlemlendi, ortalama $1,00 \pm 0,00$ 'dir. Bu sonuçlara göre, glomeruloza tabakasında konjesyon; KSAB ve *E. coli* grubunda, kontrol grubu ve KRAB grubuna göre daha fazla görüldü. Gruplar arası yapılan analizde ise KSAB grubu, KRAB ($p=0,018$) ve kontrol grubuna göre anlamlı bulundu ($p=0,010$). KSAB ve *E. coli* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

Fasikulata tabakasının histopatolojik olarak incelenmesinde, KSAB grubunda 12 farede konjesyon gözlemlendi. Ortalama $1,08 \pm 0,28$ olarak hesaplandı. KRAB verilen grupta ise 5 farede konjesyon vardı ve hepsi birinci derecede konjesyon olup ortalama $1 \pm 0,0$ idi. Üçüncü grupta, 6 farede konjesyon vardı ve ortalama değer $1,16 \pm 0,04$ idi. Kontrol grubunda ise 3 farede konjesyon gözlemlendi, hepsi birinci derecede konjesyon olarak değerlendirildi. Fasikulata tabakasında konjesyon; KSAB grubunda, kontrol grubu, *E.coli* ve KRAB grubuna göre daha fazla izlenmiş olup, KSAB grubunda kontrol grubuna göre anlamlı fark saptandı ($p=0,006$).

Retiküler tabaka incelendiğinde, KSAB verilen ilk grupta 7 farede konjesyon görülmüş olup, ortalaması $1,57\pm0,78$ olarak hesaplandı. KRAB verilen ikinci grupta çalışılan 13 farenin hepsinde konjesyon görülmüş olup, ortalama $1,38\pm0,50$ olarak bulundu. *E. coli* grubunda ise 14 farede konjesyon izlendi, 1 farede izlenmedi. Ortalama değer $1,85\pm0,77$ olarak hesaplandı. Kontrol grubunda, retiküler tabakada konjesyon gözlenmedi.

Tablo 6. Gruplarda adrenal bezdeki histopatolojik değişikliğin tabakalara göre değerlendirilmesi ve karşılaştırılması

Deneklerin Histopatolojik Tutulum Sayıları ve Evre Ortalama Sonuçları

	Grup 1. KSAB		Grup 2. KRAB		Grup 3. E.coli		Grup 4.Kontrol	
	h/n	Ort /SD	h/n	Ort /SD	h/n	Ort /SD	h/n	Ort /SD
Zona glomerulosa	11/15	$1,18\pm0,6$	2/13	$1,00\pm0,0$	8/15	$1,25\pm0,7$	2/15	$1,00\pm0,0$
Zona fasikulata	12/15	$1,08\pm0,28$	5/13	$1,00\pm0,0$	6/15	$1,16\pm0,04$	3/15	$1,00\pm0,0$
Zona retikularis	7/15	$1,57\pm0,78$	13/13	$1,38\pm0,50$	14/15	$1,85\pm0,77$	0	0
Medulla	10/15	$1,30\pm0,67$	12/13	$1,00\pm0,0$	15/15	$1,46\pm0,63$	2/15	$1,00\pm0,0$
Yağlanma	6/15	$1,00\pm0,0$	12/13	$1,58\pm0,66$	14/15	$1,78\pm0,8$	0	0

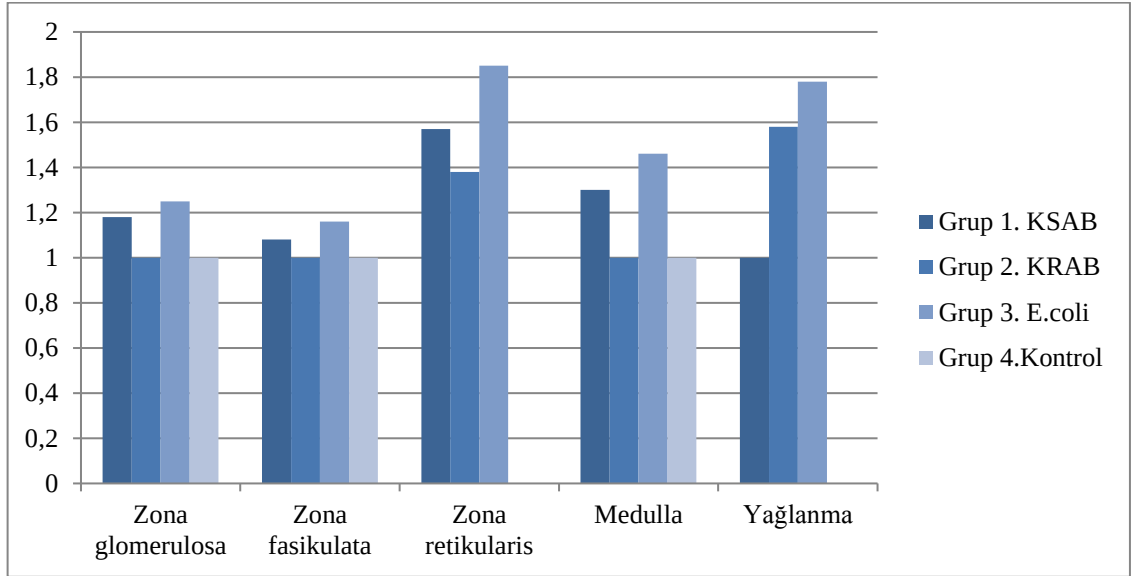
h. histopatolojik değişiklik görülen sayı, n. Toplam sayı, Ort. Ortalama, SD. Standart sapma

Buna göre, Retikularis tabakasında konjesyon; KSAB, KRAB ve *E. coli* grubunda, kontrol grubuna göre daha fazla görüldü, istatistiksel olarak da bu farklar anlamlı bulundu. p değerleri sırası ile $p=0,031$, $p<0,001$ ve $p<0,001$ olarak hesaplandı . Ayrıca sepsis grupları kendi arasında kıyaslandığında *E. coli* grubunda KSAB grubuna göre daha fazla konjesyon saptandı. İstatistiksel değerlendirmede bu fark anlamlı bulunmadı ($p=0,005$).

Meduller tabakanın incelenmesinde, KSAB grubunda 10 farede konjesyon izlendi, ortalama ise $1,30\pm0,67$ idi. İkinci grupta ortalama evre $1\pm0,00$ olmak üzere 12 farede konjesyon vardı. *E. coli* verilen grubun tamamında konjesyon vardı. Ortalama değer $1,46\pm0,63$ idi. Kontrol grubunda ise 2 farede konjesyon izlenmiş olup ortalaması $1\pm0,00$ idi. Medulla tabakasında konjesyon; KSAB ($p=0,006$), KRAB ($p=0,004$) ve *E. coli* ($p<0,001$) grubunda, kontrol grubuna göre daha fazla; ayrıca sepsis gruplarının

kıyaslanmasında ise *E. coli* grubunda KSAB grubuna göre daha fazla tutulum gözlemlendi ($p=0,032$).

Yağlanma açısından değerlendirmede ise KSAB grubunda 6 farede yağ hücresi görüldü, ortalaması $1,00 \pm 0,00$; KRAB grubunda 13 farenin 12'sinde görüldü, ortalama $1,58 \pm 0,66$ olarak hesaplandı. *E. coli* grubunda ise 14 farede yağlanma gözlemlendi, ortalama değer $1,78 \pm 0,80$ bulundu. Kontrol grubunda hiçbir farede yağlanma gözlemlenmedi. Yağ hücreleri; KRAB ve *E. coli* grubunda, kontrol ve KSAB gruplarına göre daha fazla idi. İstatistiksel analizde ise, KSAB grubu ile kontrol grubu arasında fark yok ancak, KRAB ($p<0,001$) ve *E. coli* ($p<0,001$) grubunun kontrol grubu ile farkı anlamlı bulundu. KRAB ve *E. coli* gruplarının kendi arasında anlamlı fark yok ancak KRAB ve *E. coli* gruplarının KSAB'ye göre olan farkı anlamlı bulundu ($<0,001$).



Şekil 3. Gruplarda Adrenal Bez Tabakalarında Gözlenen Histopatolojik Değişikliklerin Evreleme Ortalamaları Göre Karşılaştırılması

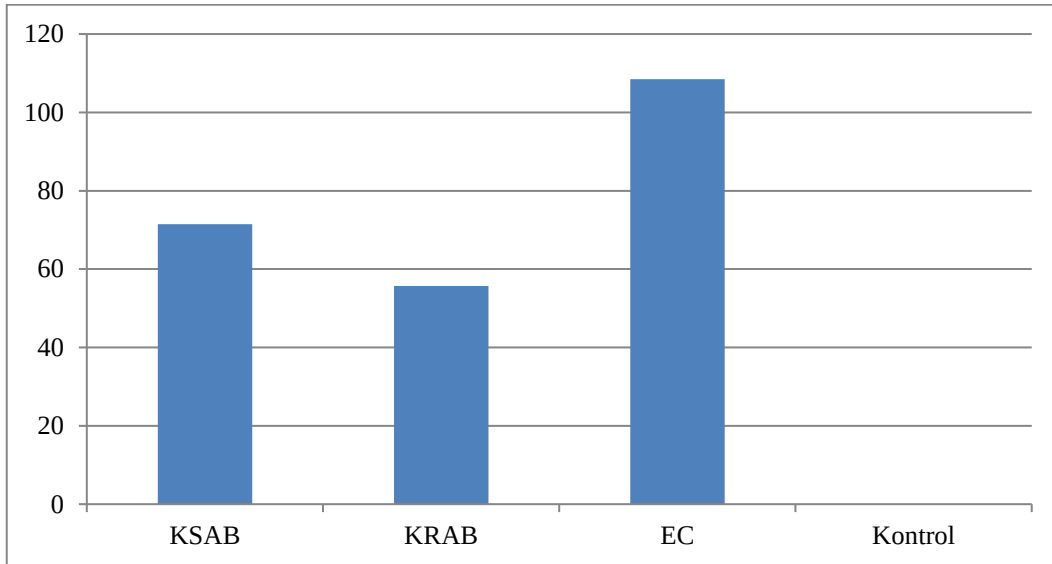
4.2. Mikrobiyolojik Çalışma

Gruplarda, farelerin adrenal bezlerinden yapılan kültürde gram başına üreyen koloni sayıları değerlendirildi. KSAB grubunda ortalama $71,46 \pm 26,12$ olarak hesaplandı. KRAB grubunda gram başına üreyen koloni sayısı ortalama $55,67 \pm 31,86$; *E. coli* grubunda ortalama koloni sayısı $108,45 \pm 30,55$ olarak bulundu. Bakteriyel yük; *E. coli* grubunda, KRAB ve KSAB grubuna göre daha fazla saptandı. Gruplar ve bakteriyel yük Tablo 7 ve Şekil 4'de özetlenmektedir.

Tablo 7. Adrenal dokusunda bakteriyel yükün gruplara göre karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama $\pm$ standart sapma (log10 kob/g)
Grup 1 KSAB	71,46 $\pm$ 26,12
Grup 2 KRAB	55,67 $\pm$ 31,86
Grup 3 <i>E. coli</i>	108,45 $\pm$ 30,55
Grup 4 Kontrol	

Gruplar arası istatistiksel değerlendirmede, *E. coli* grubunda, KRAB ($p<0,001$) ve KSAB ($p=0,004$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi.



Şekil 4. Adrenal dokusunda bakteriyel yükün gruplara göre karşılaştırılması

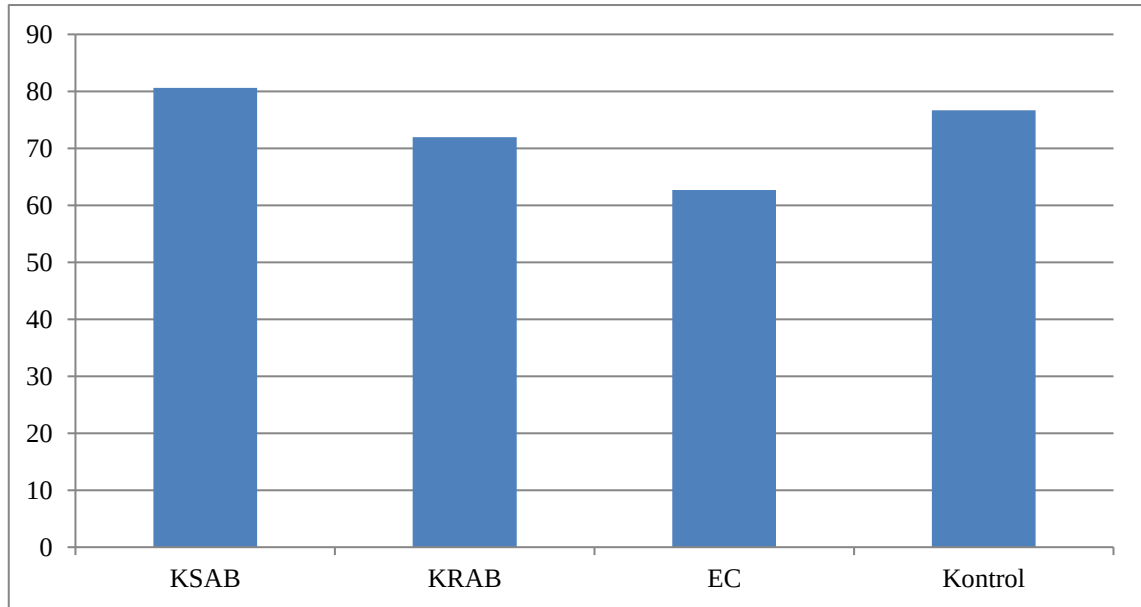
4.3. Hormon Düzeyi Ölçümü

Kortikosteron düzeylerinin ölçümünde; KSAB verilen ilk grupta ortalama kortikosteron düzeyi 80,63 $\pm$ 4,22 μ g/ml, KRAB 71,96 $\pm$ 4,87 μ g/ml, *E. coli* grubunda 62,71 $\pm$ 9,96 μ g/ml ve kontrol grubunda 76,66 $\pm$ 3,31 μ g/ml olarak bulundu. Buna göre en düşük kortikosteron seviyesi *E. coli* grubunda görüldü. Grupların kortikosteron düzeyi ortalamaları Tablo 8. ve Şekil 5'te verilmiştir.

Tablo 8. Grupların serum kortikosteron düzeyi ortalamalarının karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama $\pm$ standart sapma ($\mu\text{g/ml}$)
Grup 1 KSAB	80,63 $\pm$ 4,22
Grup 2 KRAB	71,96 $\pm$ 4,87
Grup 3 EC	62,71 $\pm$ 9,96
Grup 4 K	76,66 $\pm$ 3,31

İstatistiksel analizde ise *E. coli* grubunun, KSAB ($p<0,001$), KRAB ($p=0,001$) ve kontrol grubu ($p<0,001$) ile karşılaştırılmasında aralarındaki fark anlamlı bulundu. Ayrıca KRAB grubunda kortikosteron seviyesi KSAB grubuna göre daha düşük bulundu ($p=0,003$).



Şekil 5. Grupların kortikosteron düzeylerinin karşılaştırılması

4.4. Sitokin Çalışması

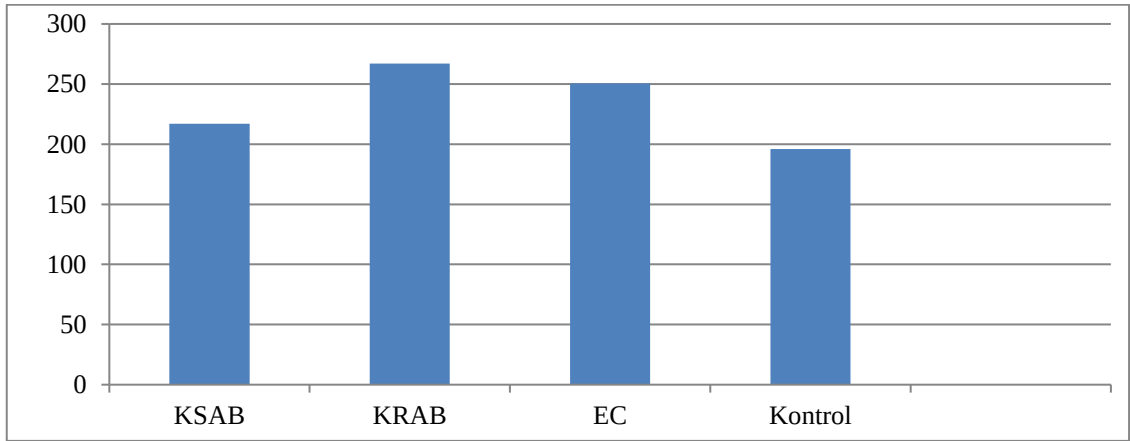
4.4.1. TNF- α

TNF- α düzeylerini değerlendirmek için yapılan çalışmada, KSAB verilen ilk grupta ortalama TNF- α düzeyi 217,07 $\pm$ 33,04 pg/ml, KRAB grubunda 267,07 $\pm$ 31,55 pg/ml, *E. coli* grubunda 250,62 $\pm$ 73,20 pg/ml ve kontrol grubunda 195,84 $\pm$ 46,48 pg/ml olarak hesaplandı. TNF- α düzeyleri Tablo 9 ve Şekil 6'da verilmiştir. Buna göre en yüksek TNF- α seviyesi KRAB grubunda görüldü.

Tablo 9. Grupların serum TNF - α düzeyi ortalamalarının karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama $\pm$ standart sapma (pg/ml)
Grup 1 KSAB	217,07 $\pm$ 33,04
Grup 2 KRAB	267,07 $\pm$ 31,55
Grup 3 EC	250,62 $\pm$ 73,20
Grup 4 K	195,84 $\pm$ 46,48

İstatistiksel analizde ise *E. coli* ve KRAB grubu ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Sepsis gruplarının birbiri ile kıyaslanmasında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.



Şekil 6 Grupların serum TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması

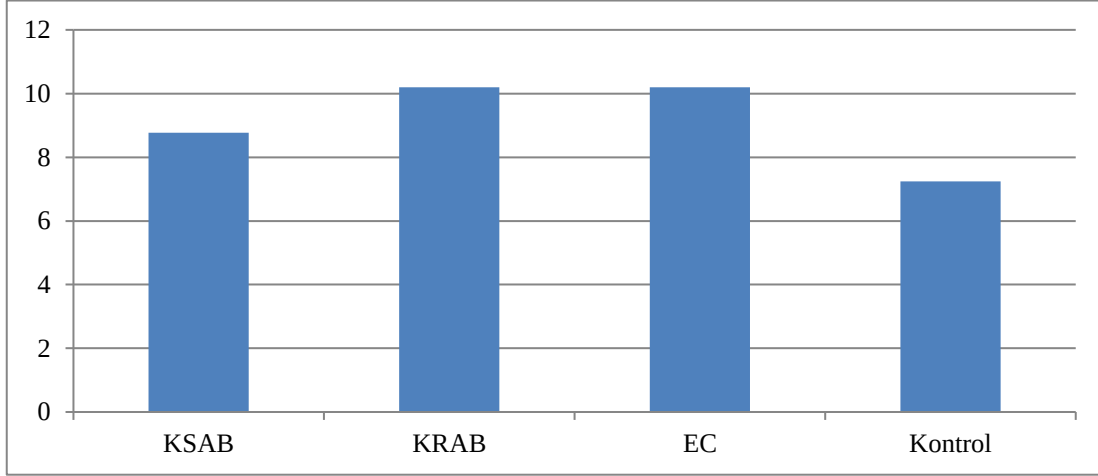
4.4.2. IL-6

IL-6 düzeylerinin değerlendirilmesinde ise, KSAB grubunda ortalama IL-6 düzeyi 8,77 $\pm$ 2,41 pg/ml, KRAB grubunda 10,20 $\pm$ 2,36 pg/ml, *E. coli* grubunda 9,52 $\pm$ 1,98 pg/ml ve kontrol grubunda 7,24 $\pm$ 2,62 pg/ml olarak bulundu. IL-6 düzeyleri Tablo 10 ve Şekil 7’de verilmektedir.

Tablo 10. Grupların serum IL- 6 sitokin düzeyi ortalamalarının karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama $\pm$ standart sapma (pg/ml)
Grup 1 KSAB	8,77 $\pm$ 2,41
Grup 2 KRAB	10,20 $\pm$ 2,36
Grup 3 EC	9,52 $\pm$ 1,98
Grup 4 K	7,24 $\pm$ 2,62

Sepsis gruplarının üçünde de kontrol grubundan daha yüksek seviyede IL-6 düzeyi tespit edilmiş olup, istatistiksel olarak değerlendirilmesinde, KRAB grubu kontrol grubuna göre anlamlı bulundu ($p=0,009$).



Şekil 7. Grupların serum IL- 6 sitokin düzeylerinin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Sepsis, enfeksiyöz etkenlere yanıt olarak konakta gelişen, artmış sitokin düzeyleri, kompleman ve koagülasyon yanıtı ile karakterize, yüksek mortalite ve morbidite ile seyreden ve tüm dünyayı etkileyen önemli bir sorundur (102). Son yıllarda sepsis etkeni olarak gram negatif bakteriler artan sıklıkla izole edilmektedir. Gram negatif bakteriler arasında, özellikle toplum kaynaklı sepsislerde, *E. coli* sık izole edilen mikroorganizmalar arasındadır. Ancak son yıllarda, nozokomiyal sepsis insidansı artmakta ve etken olarak da özellikle YBÜ kaynaklı sepsislerde, *A. baumannii* sık görülen etkindir. *A. baumannii*, YBÜ’de nozokomiyal pnömoni ve bakteriyemide en sık görülen patojenlerden biridir. (7). Özellikle son 20 yılda, hastane ortamlarında gelişen ve haftalarca ekipman ve yüzeylerde yaşayabilecek kadar önemli, çok ilaca dirençli (ÇİD) bakteriler olarak görülmektedir (7). ÇİD *A. baumannii* suşları ile enfekte olan hastalarda ÇİD dışı *A. baumannii* suşlarıyla enfekte olanlara kıyasla daha yüksek morbidite ve mortalite oranları bildirilmiştir (103,104).

Adrenal tutulum, birçok mikroorganizmanın neden olduğu sepsiste tanımlanmıştır. Masif kanama, apse ve granülom gibi patolojik durumlar, bakteriyel enfeksiyonlarda görülür. Özellikle adrenal kortekste hemoraji, en sık tanımlanan lezyondur (23). Genellikle adrenal bezde bakteriyel tutulum varlığı ile adrenal hemoraji korele bir durumdur ancak adrenal bezde bakteriyel tutulum olmadan da adrenal yetmezlik olabilir (105). Bir raporda, menenjit geçiren ve septisemi gelişen 11 hastanın adrenal bezinden 6 (%55) 'sında immunofloresan teknikler kullanılarak *Neisseria meningitidis* ve

Haemophilus influenzae tespit edilmiştir. Diğer hastalarda da adrenal hemoraji görülmüş ancak bakteri tespit edilememiş, adrenal hemoraji, klinik ağırlığa bağlanmıştır (106). Her bakterinin adrenal tutulum ağırlığı aynı değildir. Adrenal bezde hemoraji ve nekroz özellikle *N. meningitidis* için spesifik tutulum olarak bilinmekle birlikte literatürde *E. coli* sepsislerinin ağır seyrettiği ve adrenal hemoraji yapabileceği bildirilmiştir (21,107,108).

Enfeksiyonlarda adrenal bezin etkilenmesi farklı mekanizmalar ile olabilir; 1. Mikroorganizma bizzat adrenalleri tutar, 2. Hem mikroorganizma adrenalleri tutar hem de mikroorganizmanın toksinleri adrenalleri etkiler, 3. Enfeksiyona bağlı açığa çıkan sitokinlerin etkisi ile adrenal fonksiyonlar etkilenir (18). Bu deneysel çalışmada, deneyde kullanılan bakterilerin ve muhtemelen sitokinlerin adrenalleri etkiledikleri anlaşılmaktadır. Adrenallerin histopatolojik incelenmesinde; bütün çalışma gruplarında da adrenallerde konjesyon gözlenirken, hiçbirisinde lökosit, nekroz veya hemoraji izlenmemiştir. Bu da adrenallerin etkilenmesinin enflamasyonun şiddetine bağlı olabileceğini akla getirmektedir.

Gruplar arasında farklı olmak üzere, adrenal korteks ve meduller tabakalarda konjesyon izlenmiştir. Adrenal bezin tamamının değerlendirilmesinde, gruplar arasında en fazla konjesyon olan grup *E. coli* 'dir (Şekil 2.). Adrenal bez tabakaları ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise medulla dahil tüm tabakalarda en fazla konjesyon *E. coli* grubunda saptanmıştır (Şekil 3.). Kortizol düzeyinin bu grupta en düşük seviyede olması ve en fazla bakteriyel yükün bu grupta izlenmesine rağmen hemoraji veya nekroz olmaması, sepsisin ağırlığı ile adrenal yetmezlik oluşumunu düşündürmüştür. *E. coli* grubunda, en düşük kortizol seviyeleri tespit edilmiştir. Ayrıca, sepsis oluşturmak için gerekli inokulum dozu en az bu grupta saptanmıştır. Bu da *E. coli* 'nin daha virülen bir suş olduğunu düşündürmektedir.

Ağır sepsis ve şeptik şokta, adrenal yetmezlik geliştiği ve bu yetmezliğin mortalite ile yakından ilişkili olduğu birçok çalışmada doğrulanmıştır (18). HHA aksın 'negatif feedback' mekanizması ve bu aksın ritmi, sepsis sırasında bozulmaktadır (109,110). Ayrıca ACTH uyarısından farklı bir etken olarak, endotoksemi veya LPS uyarısı ile dolaşımda artan IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler, sepsiste HHA aksı akut ve geçici olarak aktive etmektedir; böylece kortokosteron ve kortizol salınımının artmasını sağlamaktadırlar (18,111). Buna ek olarak sepsiste kortizolun dolaşımdan klerensinin de bozulduğu gösterilmiştir, dolayısıyla sepsisin erken dönemlerinde dolaşımdaki kortizol

ve kortikosteron seviyesi artmaktadır. Enflamatuvar cevap oluşan hastalarda kortizol üretim oranının biraz arttığına dair bazı kanıtlar vardır ancak septik şok geçiren hastaların yaklaşık yarısında metirapon sentezine yetersiz yanıt, kortizol sentezinde azalma olduğunu düşündürmektedir (112). Buna benzer şekilde, TNF- α ve kortikostatin gibi ürünlerin devamlı uyarısının, adrenal fonksiyon ve kortizol üretimini inhibe edebileceği gösterilmiştir (113). Özellikle inflamatuvar mediatörlerin adrenal fonksiyon üzerine baskılayıcı etkileri olduğu da literatürde yer almaktadır. Zamanla, sitokinlere uzun süre maruz kalma, hipotalamik-pitüiter aksın değişmiş bir yanıtına neden olabileceği düşünülmektedir. Benzer bir şekilde, IL-6'daki kronik artış, ACTH üretiminde bir düşüşe yol açabilmektedir. TNF- α 'nın ise adrenal fonksiyonda, CRH stimülasyonunda ve ACTH üretiminde bir azalmaya neden olabileceği gösterilmiştir (114-116). Marik ve ark. bir çalışmada, ağır sepsisli hastaları değerlendirmiş ve mortalite ile sonuçlanan grupta ortalama kortizol değerlerini daha düşük bulmuşlardır (110). Kleijn ve ark. da meningokok sepsisli çocukları değerlendirdikleri başka bir çalışmada ise düşük kortizol ve yüksek ACTH seviyelerinin kötü prognoz ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (117). Bu bilgiler ışığında, sepsiste kortizol düzeyleri ile ilişkili olarak mortalitenin iki yönlü dağılımı olduğu kabul edilmektedir. Kortikosteroidlerle tedavi edilmeyen düşük kortizol düzeyi ve çok yüksek seviyedeki kortizol düzeyi olan hastalar en yüksek mortaliteye sahiptir. Bu hipotez literatürdeki belirgin çelişik raporları açıklayabilir (118). Bu çalışmada ise kortikosteron düzeyi *E. coli* grubunda en düşük seviyede ölçülmüştür. Bakteriyel yükü ve sitokin seviyeleri daha yüksek olan gruplarda, kortikosteron seviyesi daha düşük bulunmuştur. Sitokin seviyesindeki artışın, kortikosteronda sentezinde baskılanmaya neden olabileceği düşünülmüştür.

Histopatolojik incelemede, kortikomeduller bileşkede saptanan yağlanma artışı, KRAB ve *E. coli* grubunda daha fazla izlenmiştir. Literatürde, kortikomeduller bileşkede yağ hücresi konusunda herhangi bir bilgi bulunamamıştır. Polito ve ark. insanlarda görülen veya deneysel olarak geliştirilen sepsiste adrenal bezde nekroz ile birlikte lipid hücresi kaybı olduğunu yayınlamışlardır (119). Ancak bizim çalışmamızda kortikal tabakada yağ kaybına rastlanmamış, kortikomeduller bileşkede yağ hücresi artışı izlenmiştir. Bakteriyel yükün ve sitokin seviyelerinin daha yüksek olduğu, konjesyonun daha fazla olduğu iki grup olan KRAB ve *E. coli* grubunda yağlanmanın fazla görülmesi, bu durumun sepsis kliniğinin ağırlığı ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür.

Septik şok üzerine yapılan birçok çalışmada, IL6 ve TNF- α düzeylerinin yükseldiği bildirilmiş ve bu sitokinlerin seviyeleri ile mortalite arasında bir korelasyon olduğunu

belirtilmiştir (120,121). İntraabdominal kaynaklı sepsislerin değerlendirildiği bir çalışmada ise, yüksek TNF alfa düzeyinin, gram negatif sepsislerde mortalite için prediktif değerinin yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yaşayan ve ölüm ile sonuçlanan olgular arasında da TNF alfa düzeyi açısından fark görülmüştür (38). Bu deneysel çalışmada ise, TNF- α düzeyleri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlenmektedir.

IL-6 ve adrenal fonksiyonlar arasındaki ilişkiye dair birden fazla çalışma sonucu mevcuttur (18,122). Andaluz-Ojeda ve ark. ise sepsiste 17 immun mediyatörü inceledikleri bir çalışmada, IL-6 düzeylerinin 3 gün ve 28 gün mortalite oranları ile korele olarak bulmuşlardır (123). Wu ve ark. ise septik şoktaki hastalarda, şok tablosunda olmayan sepsisli hastalara göre, ayrıca mortalitesi yüksek olan hasta grubunda düşük olan gruba göre IL-6 seviyesini daha yüksek bulmuşlardır (124). Kleijn ve ark tarafından yapılan ve meningokok sepsisli çocukların değerlendirildiği yukarıda bahsedilen çalışmada ise IL-6 düzeyi yüksek mortalite oranı ile ilişkili bulunmuştur (117).

6. SONUÇLAR

1. *E.coli* sepsisinde adrenal bezde konjesyon, *A. baumannii* sepsisine göre daha fazla görülmektedir.
2. *E.coli* sepsisinde bakteriyel yük daha fazla görülmüştür.
3. *E.coli* sepsisinde kortikosteron düzeyi, gruplar arasındaki en düşük düzeyde görülmüştür. Bu da daha fazla adrenal yetmezlik gelişebileceğini düşündürmektedir. Histopatolojik olarak lökosit infiltrasyonu görülmemesi ise adrenal yetmezliğin klinik ağırlığa bağlı olabileceğini düşündürmüştür.
4. *E.coli* ve KRAB sepsisinde daha yüksek TNF- α düzeyi görülmektedir.
5. *E.coli* ve KRAB sepsisinde daha yüksek IL-6 düzeyi görülmektedir.
6. Sitokin seviyeleri daha yüksek olan gruplarda, diğer gruplara göre daha düşük kortikosteron tespit edilmiş olması, yüksek sitokin seviyelerinin kortizol üretimini baskılayabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada, KRAB sepsisinde, virülansı yüksek olan *E.coli* sepsisine benzer adrenal tutulum ve enflamatuvar reaksiyonlar izlenmiştir. Buradaki bulgular, ileriki klinik çalışmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA 2016;315:801-10.
2. Grande VM, Kumar A. Optimizing Antimicrobial Therapy of Sepsis and Septic Shock: Focus on Antibiotic Combination Therapy. Semin Respir Crit Care Med 2015;36:154–166.
3. Altaweel L, Sweeney D, Cui X, Barochia A, Natanson C, Eichacker PQ. Growing insights into the potential benefits and risks of activated protein C administration in sepsis: a review of preclinical and clinical studies. Intensive Care Med. 2007;33(3):396–399.
4. Fleischmann C, Scherag, A, Adhikari N.K, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis: current estimates and limitations. Am J Respir Crit Care Med. 2016;193:259–272
5. Kumar A. An alternate pathophysiologic paradigm of sepsis and septic shock: implications for optimizing antimicrobial therapy. Virulence. 2014;5(1):80-97
6. Zilberberg MD, Shorr AF, Micek ST, Vazquez-Guillamet C, Kollef MH. Multi-drug resistance, inappropriate initial antibiotic therapy and mortality in Gram-negative severe sepsis and septic shock: a retrospective cohort study. Crit Care.2014;18(6):596.
7. Erciyes Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Enfeksiyon Kontrol Kurulu 2016 Yılı Surveyans Kayıtları
8. Angus DC, van der Poll T. Severe Sepsis and Septic Shock. N Engl J Med 2013; 369:840-851.
9. Aygen B, Inan M, Doğanay M, Keleştimur F. Adrenal functions in patients with sepsis. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 1997;105(3):182-6.
10. Erdoğan G. Koloğlu Endokrinoloji Temel ve Klinik. Nobel Tıp Kitabevi. 2005:525-561.
11. Bielohuby M, Herbach N, Wanke R, Maser-Gluth C, et al. Growth analysis of the mouse adrenal gland from weaning to adulthood: time- and gender-dependent

- alterations of cell size and number in the cortical compartment. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;293:139–146.
12. Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med*. 1995;332(20):1351-62.
 13. Annane D. The Role of ACTH and Corticosteroids for Sepsis and Septic Shock: An Update. *Front Endocrinol (Lausanne)*.2016;7:70.
 14. Yildiz O, Gokce C, Alp E, Durak AC, Aygen B, Kelestimur F, Doganay M. Investigation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and changes in the size of adrenal glands in acute brucellosis. *Endocr J* 2005; 52(2):183-8.
 15. Pinchot GB, Close VP, Long CNH. Adrenal changes produced in rats by infection with *B. tularensis* and *B. coli*. *Endocrinology*, 1949;45:135-142.
 16. Webster J, Sternberg E. Role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, glucocorticoids and glucocorticoid receptors in toxic sequelae of exposure to bacterial and viral products. *Journal of Endocrinology* 2004;181:207-221.
 17. Jung B, Nougaret S, Chanques G, Mercier G, et al. The absence of adrenal gland enlargement during septic shock predicts mortality: a computed tomography study of 239 patients. *Anesthesiology* 2011;115:334–43.
 18. Soni A, Pepper GM, Wyrwinski PM, Ramirez NE, et al. Adrenal insufficiency occurring during septic shock: incidence, outcome, and relationship to peripheral cytokine levels. *Am J Med*. 1995;98(3):266-71.
 19. Yildiz O, Doganay M, Aygen B, Guven M, Kelestimur F, Tutuu A. Physiological-dose steroid therapy in sepsis. *Crit Care*.2002;6(3):251-9.
 20. Tormos LM, Schandl CA. The significance of adrenal hemorrhage: undiagnosed Waterhouse-Friderichsen syndrome, a case series. *J Forensic Sci*. 2013;58(4):1071-4.
 21. Khwaja J. Bilateral adrenal hemorrhage in the background of *Escherichia coli* sepsis: a case report. *J Med Case Rep*. 2017 Mar 17;11(1):72.
 22. Dermengiu D, Curca GC, Ceausu M, Hostiu S. Particularities regarding the etiology of sepsis in forensic services. *J Forensic Sci*. 2013 Sep;58(5):1183-8.

23. Guarner J, Paddock CD, Bartlett J, Zaki SR. Adrenal gland hemorrhage in patients with fatal bacterial infections. *Mod Pathol.* 2008 Sep;21(9):1113-20
24. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word “sepsis”. *Intensive Care Med* 2006; 32:2077.
25. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nat Rev Immunol* 2008;8:776–787.
26. Baron RM, Baron MJ, Perrella MA. Pathobiology of sepsis: are we still asking the same questions? *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006;34:129–34.
27. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 1992;101(6):1644-55.
28. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med.* 2003; 29(4):530-8.
29. Verdonk F, Blet A, Mebazaa A. The new sepsis definition: limitations and contribution to research and diagnosis of sepsis. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2017;30:200–4
30. Esposito S, De Simone G, Boccia G, De Carob F, Pagliano P. Sepsis and septic shock: New definitions, new diagnostic and therapeutic approaches. *Sepsis and septic shock: New definitions, new diagnostic and therapeutic approaches. J Glob Antimicrob Resist.* 2017;10:204-212.
31. Adhikari NK, Fowler RA, Bhagwanjee S, Rubenfeld GD. Critical care and the global burden of critical illness in adults. *Lancet.* 2010;376(9749):1339-46.
32. Genga KA, Russell JA. Update of Sepsis in the Intensive Care Unit. *J Innate Immun* 2017;9:441–455
33. Polat G, Ugan RA. Sepsis and Septic Shock: Current Treatment Strategies and New Approaches, *Eurasian J Med* 2017;49: 53-8
34. Alp E. Right first time!. *Ann Transl Med.* 2016; 4(17): 331.

35. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med 2001; **29**: 1303
36. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med 2003;348:16.
37. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/index.php>
38. Surbatovic M, Popovic N, Vojvodic D, Milosevic I, Acimovic G, Stojicic M. Cytokine profile in severe Gram-positive and Gram-negative abdominal sepsis. Sci Rep. 2015 Jun 16;5:11355.
39. Dramowski A, Cotton MF, Rabie H, Whitelaw A. Trends in paediatric bloodstream infections at a South African referral hospital. BMC Pediatr. 2015;15:33.
40. Wu JN, Gan TE, Zhu YX, Cao JM. Epidemiology and microbiology of nosocomial bloodstream infections: analysis of 482 cases from a retrospective surveillance study. J Zhejiang Univ Sci B. 2015;16(1):70-7
41. Munoz-Price LS, Weinstein RA. Acinetobacter infection. The New England Journal Medicine, 2008; 358 (12): 1271-1281
42. Esen N. Acinetobacter ve diğer non-f basiller. İn: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (Eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul 2017. 4. Baskı 1916-1932.
43. Wong D, Nielsen TB, Bonomo RA, Pantapalangkoor P, Luna B, Spellberg B. Clinical and Pathophysiological Overview of Acinetobacter Infections: a Century of Challenges. Clin Microbiol Rev. 2017 Jan;30(1):409-447.
44. Michalopoulos A, Falagas ME. Treatment of Acinetobacter infections. Expert Opin Pharmacother. 2010;11(5):779-88.
45. Navon-Venezia S(1), Ben-Ami R, Carmeli Y. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. Curr Opin Infect Dis. 2005;18(4):306-13.

46. Lee CR, Lee JH, Park M, et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017; 13:7-55.
47. Boll JM, Tucker AT, Klein DR, et al. Reinforcing Lipid A Acylation on the Cell Surface of *Acinetobacter baumannii* Promotes Cationic Antimicrobial Peptide Resistance and Desiccation Survival. *MBio*. 2015;19;6(3):e00478-15
48. Geisinger E, Isberg RR. Antibiotic modulation of capsular exopolysaccharide and virulence in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Pathog*. 2015;13:11(2).
49. Dorsey CW, Beglin MS, Actis LA. Detection and analysis of iron uptake components expressed by *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2003; 41(9):4188-93
50. Leclercq R(1), Cantón R, Brown DF, et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(2):141-60.
51. Evans BA, Hamouda A, Amyes SG. The rise of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Curr Pharm Des*. 2013;19(2):223-38.
52. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(11):4943-60.
53. Nowak P, Paluchowska P. *Acinetobacter baumannii*: biology and drug resistance — role of carbapenemases. *Folia Histochem Cytobiol*. 2016;54(2):61-74.
54. Abbott I, Cerqueira GM, Bhuiyan S, Peleg AY. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: laboratory challenges, mechanistic insights and therapeutic strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013;11(4):395-409.
55. Patel G, Bonomo RA. “Stormy waters ahead”: global emergence of carbapenemases. *Front Microbiol*. 2013;14:48.
56. Evans BA, Amyes SG. OXA b-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27:241–263.
57. Karageorgopoulos DE, Falagas ME. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Lancet Infect Dis*. 2008;8(12):751-62.
58. Alp E, Yerer M, Kocagoz S. The risk factors and spread of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in intubated patients in a medical intensive care unit. *Turk J Med Sci* 2009; 39 (5): 761-9

59. Metan G, Sariguzel F, Sumerkan B. Factors influencing survival in patients with multi-drug-resistant *Acinetobacter* bacteraemia. *Eur J Intern Med.* 2009; 20(5): 540-4.
60. Kumar A, Randhawa VS, Nirupam N, Rai Y, Saili A. Risk factors for carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* blood stream infections in a neonatal intensive care unit, Delhi, India. *J Infect Dev Ctries.* 2014;13(8):1049-54.
61. Metan G, Alp E, Aygen B, Sumerkan B. *Acinetobacter baumannii* meningitis in post- eurosurgeal patients: clinical outcome and impact of carbapenem resistance. *J Antimicrob Chemother* 2007;60(1):197-9.).
62. Glew RH, Moellering RC Jr, Kunz LJ. Infections with *Acinetobacter calcoaceticus* (*Herellea vaginicola*): clinical and laboratory studies. *Medicine (Baltimore).* 1977;56(2):79-97.
63. Murray CK, Yun HC, Griffith ME, Hospenthal DR, Tong MJ. *Acinetobacter* Infection: What Was the True Impact during the Vietnam Conflict? *Clin Infect Dis.* 2006 1:43(3):383-4.
64. Oncül O, Keskin O, Acar HV, et al. Hospital-acquired infections following the 1999 Marmara earthquake. *J Hosp Infect.* 2002;51(1):47-51.
65. Chao CT, Lee SY, Yang WS, et al. *Acinetobacter* Peritoneal Dialysis Peritonitis: A Changing Landscape over Time. *PLoS One.* 2014; 9(10): e110315.
66. Russo TA, Johnson JR. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes Infect.* 2003;5(5):449-56.
67. Mellata M. Human and Avian Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Infections, Zoonotic Risks, and Antibiotic Resistance Trends. *Foodborne Pathog Dis.* 2013;10(11): 916–932.
68. Johnson JR, Owens K, Gajewski A, Kuskowski MA. Bacterial Characteristics in Relation to Clinical Source of *Escherichia coli* Isolates from Women with Acute Cystitis or Pyelonephritis and Uninfected Women. *J Clin Microbiol.* 2005 Dec; 43(12): 6064–6072.

69. Bien J, Sokolova O, Przemyslaw Bozko P. Role of Uropathogenic *Escherichia coli* Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. *Int J Nephrol*. 2012;2012:681473.
70. Bianca A, Beltrán MS, Lee BG, Yambao JC, Quiñones B. Isolation, genotyping and antimicrobial resistance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *J Microbiol Immunol Infect*. 2017;18:(17):30144-5
71. Zhang G, Meredith TC, Kahne D. On the essentiality of Lipopolysaccharide to Gram-negative bacteria. *Curr Opin Microbiol*. 2013;16(6):779-85
72. Popov D, Pavlov G. Sepsis models in experimental animals. *Trakia Journal of Sciences* 2013;1 :13-23.
73. Abreu AG, Barbosa AS. How *Escherichia coli* Circumvent Complement-Mediated Killing. *Front Immunol*. 2017;20(8):452
74. Terlizzi ME, Gribaudo G, Maffei ME. UroPathogenic *Escherichia coli* (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Non-antibiotic Antimicrobial Strategies. *Front Microbiol*. 2017;15(8):1566
75. Sarkar S, Ulett GC, Totsika M, Phan MD, Schembri MA. Role of capsule and O antigen in the virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. *PLoS One*. 2014;109(4):e94786
76. Whitfield C, Roberts IS. Structure, assembly and regulation of expression of capsules in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*. 1999;31(5):1307-19.
77. Rogers BA, Sidjabat HE, Paterson DL. *Escherichia coli* O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66(1):1-14.
78. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2(2):123-40.
79. O. R. Torres, W. González, O. Lemus, et al. Toxins and virulence factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* associated with strains isolated from indigenous children and international visitors to a rural community in Guatemala. *Epidemiol Infect*. 2015; 143(8): 1662–1671.
80. Dubreuil JD, Isaacson RE, Schifferli DM. Animal Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *EcoSal Plus*. 2016;1:7(1).

81. Dale AP, Woodford N. Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): Disease, carriage and clones. J Infect. 2015;71(6):615-26.
82. Irwin RS, Rippe JM. Sepsis yönetimi (çeviri: S. Çakar Turhan). Tulunay M, Cuhruk H (Ed.) Yoğun Bakım Tıbbı Ankara: Güneş tıp kitabevleri 2014;163:1855-1869.
83. Chousterman BG, Swirski FK, Weber GF. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. Semin Immunopathol. 2017;39(5):517-528.
84. Johnson CL, Soeder Y, Dahlke MH. Concise Review: Mesenchymal Stromal Cell-Based Approaches for the Treatment of Acute Respiratory Distress and Sepsis Syndromes. Stem Cells Transl Med. 2017; 6(4): 1141–1151.
85. Shen XF, Cao K, Jiang JP, Guan WX, Du JF. Neutrophil dysregulation during sepsis: an overview and update. J Cell Mol Med. 2017;21(9):1687-1697.
86. Bhan C, Dipankar P, Chakraborty P, Sarangi PP. Role of cellular events in the pathophysiology of sepsis. Inflamm Res. 2016;65(11):853-868.
87. Schulte W, Bernhagen J, Bucala R. Cytokines in sepsis: potent immunoregulators and potential therapeutic targets—an updated view. Mediators Inflamm. 2013; 2013:16597.
88. Van der Poll T, van Deventer SJ. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. Infect Dis Clin North Am. 1999;13(2):413-26.
89. Hotchkiss RS, Karl IE. The Pathophysiology and treatment of sepsis. N Engl J Med. 2003;348(2):138-150.
90. Alp E, Doğanay M. Sepsis. İn: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (Eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul 2017. 4. Baskı.851-863.
91. Deutschman CS, Tracey KJ. Sepsis: current dogma and new perspectives. Immunity. 2014;17(4):463-75.
92. Park WD and Zmijewski JW. Mitochondrial Dysfunction and Immune Cell Metabolism in Sepsis. Infect Chemother. 2017;49(1):10–21.
93. Hattori Y, Hattori K, Suzuki T, Matsuda N. Recent advances in the pathophysiology and molecular basis of sepsis-

- associated organdysfunction: Novel therapeutic implications and challenges. *Pharmacol Ther.* 2017;177:56-66.
94. Taeb AM, Hooper MH, Marik PE. Sepsis: Current Definition, Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *Nutr Clin Pract.* 2017;32(3):296-308
 95. de Stoppelaar SF, van 't Veer C, van der Poll T. The role of platelets in sepsis. *Thromb Haemost.* 2014;112(4):666-77.
 96. Keshari RS, Silasi-Mansat R, Zhu H, et al. Acute lung injury and fibrosis in a baboon model of *Escherichia coli* sepsis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014;50(2):439-50.
 97. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C, et al. Acute kidney injury in sepsis. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2015;25(2):200-9.
 98. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2001;345:1368-1377.
 99. Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med.* 2006;34(6):1589-96.
 100. Angus DC, Wax RS. Epidemiology of sepsis: an update. *Crit Care Med.* 2001 Jul;29(7 Suppl):S109-16.
 101. Belba MK, Petrela EY, Belba AG. Epidemiology and outcome analysis of sepsis and organ dysfunction/failure after burns. *Burns.* 2017 Sep;43(6):1335-1347.
 102. Dermengiu D, Curca GC, Ceausu M, Hostiuc S. Particularities regarding the etiology of sepsis in forensic services. *J Forensic Sci.* 2013;58(5):1183-8.
 103. Chopra T, Marchaim D, Johnson PC, et al. Risk factors and outcomes for patients with bloodstream infection due to *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus complex. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(8):4630-5
 104. Neonakis IK, Spandidos DA, Petinaki E. Confronting multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a review. *Int J Antimicrob Agents.* 2011;37(2):102-9.
 105. Kanczkowski W, Sue M, Zacharowski K, Reincke M, Bornstein SR. The role of adrenal gland microenvironment in the HPA axis function and dysfunction during sepsis. *Mol Cell Endocrinol.* 2015 Jun 15;408:241-8

106. Danielsson D, Nathorst-Windahl G, Saldén T. Use of immunofluorescence for identification of *Haemophilus influenzae* and *Neisseria meningitidis* in postmortem human tissue. *Ann N Y Acad Sci.* 1971;21(177):23-31.
107. Margaretten W, Nakai H, Landing B. Septicemic adrenal hemorrhage. *Am J Dis Child* 1963;105:346–51.
108. Paolo WF Jr, Nosanchuk JD. Adrenal infections. *Int J Infect Dis.* 2006;10(5):343-53.
109. Prigent H, Maxime V, Annane D. Clinical review: Corticotherapy in sepsis. *Crit Care.* 2004;8(2):122-9
110. Marik PE, Zaloga GP. Adrenal insufficiency during septic shock. *Crit Care Med.* 2003 Jan;31(1):141-5.
111. Jaattela M, Ilvesmaki V, Voutilainen R, *et al.* Tumor necrosis factor as a potent inhibitor of adrenocorticotropin-induced cortisol production and steroidogenic P450 enzyme gene expression in cultured human fetal adrenal cells. *Endocrinology.* 1991;128:623-629.
112. Drucker D, McLaughlin J. Adrenocortical dysfunction in acute medical illness. *Crit Care Med* 1986; 14:789–791
113. Sibbald WJ, Short A, Cohen MP, *et al.* Variations in adrenocortical responsiveness during severe bacterial infections: unrecognized adrenocortical insufficiency in severe bacterial infections. *Ann Surg* 1977; 186:29–33
114. Suzuki S, Oh C, Nakano K. Pituitary-dependent and -independent secretion of CS caused by bacterial endotoxin in rats. *Am J Physiol.* 1986;250(4 Pt 1):E470-4.
115. Mazzocchi G, Rocco S, Malendowicz LK, Rebuffat P, Nussdorfer GG. Bacterial lipopolysaccharide stimulates glucocorticoid secretion in hypophysectomized rats. *Endocr Res.* 1995;21(3):525-36.
116. Marik PE, Zaloga GP: Adrenal insufficiency in the critically ill: a new look at an old problem. *Chest* 2002, 122:1784-1796.
117. De Kleijn ED, Joosten KF, Van Rijn B, *et al.* Low serum cortisol in combination with high adrenocorticotrophic hormone concentrations are associated with poor

- outcome in children with severe meningococcal disease. *Pediatr Infect Dis J.* 2002;21(4):330-6.
118. Annane D, Pastores SM, Arlt W, *et al.* Critical illness - related corticosteroid insufficiency (CIRCI): a narrative review from a Multispecialty Task Force of the Society of Critical Care Medicine (SCCM) and the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Intensive Care Med.* 2017 Dec;43(12):1781-1792.
 119. Polito A, Lorin de la Grandmaison G, Mansart A, *et al.* Human and experimental septic shock are characterized by depletion of lipid droplets in the adrenals. *Intensive Care Med.* 2010 Nov;36(11):1852-8.
 120. Mastorakos G, Chrousos GP, Weber JS: Recombinant interleukin-6 activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1993, 77:1690-1694.
 121. Papanicolaou DA, Tsigos C, Oldfield EH, Chrousos GP. Acute glucocorticoid deficiency is associated with plasma elevations of interleukin-6: does the latter participate in the symptomatology of the steroid withdrawal syndrome and adrenal insufficiency? *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(6):2303-6.
 122. Perlstein RS, Mougey EH, Jackson WE, Neta R. Interleukin-1 and interleukin-6 act synergistically to stimulate the release of adrenocorticotrophic hormone *in vivo*. *Lymphokine Cytokine Res* 1991;10:141-6.
 123. Andaluz-Ojeda D, Bobillo F, Iglesias V *et al.* A combined score of pro- and anti-inflammatory interleukins improves mortality prediction in severe sepsis. *Cytokine.* 2012;57(3):332-6
 124. Wu HP, Chen CK, Chung K, *et al.* Serial cytokine levels in patients with severe sepsis. *Inflamm Res.* 2009;58(7):385-93.

EKLER

Grup 1. Karbapeneme duyarlı <i>A. baumannii</i>									
Far e No	Çalışılan Özellik								
	Bakteriy el yük (kob/ gr)	Kortikostero n (µg/ml)	TNF-α (pg/ml)	Il-6 (pg/ml)	Histopatoloji				
					Zona glomeruloz a	Zona fasikulata (Konjesyo n derecesi)	Zona retikularis (Konjesyo n derecesi)	Medulla (Konjesyo n derecesi)	Yağ hücre si
1	30,67	85,60	263,90	8,78	1	1	0	0	0
2	84,50	84,80	266,55	6,35	1	1	3	3	3
3	69,33	72,15	245,40	10,37	3	0	1	1	1
4	53,00	75,30	152,32	7,35	0	1	0	1	0
5	52,33	80,80	175,60	4,94	1	1	2	0	2
6	44,00	83,80	238,23	11,95	1	1	1	1	1
7	47,67	82,06	194,36	10,71	1	2	1	2	1
8	72,67	80,11	206,41	12,52	1	1	2	1	2
9	122,50	80,43	212,96	8,68	1	1	0	1	0
10	82,67	85,96	203,47	6,95	1	1	0	1	0
11	105,00	82,45	221,58	7,32	0	0	0	1	0
12	73,33	78,00	195,74	6,35	1	0	0	0	0
13	45,33	75,08	214,60	12,61	0	1	0	0	0
14	88,00	85,00	237,97	9,36	0	1	1	1	1
15	101,00	78,00	236,80	7,36	1	1	0	0	0

Grup 2. Karbapeneme dirençli <i>A. baumannii</i>									
Fare No	Çalışılan Özellik								
	Bakteriyel yük (kob/ gr)	Kortikosteron (µg/ml)	TNF-α (pg/ml)	İl-6 (pg/ml)	Histopatoloji				
					Zona glomeruloza	Zona fasikulata (Konjesyon derecesi)	Zona retikularis (Konjesyon derecesi)	Medulla (Konjesyon derecesi)	Yağ hücresi
1	22,00	78,30	240,17	9,72	0	0	1	1	1
2	37,67	72,69	323,15	10,89	0	1	2	1	2
3	13,00	74,00	253,83	11,57	1	1	2	1	2
4	68,00	72,69	217,86	13,61	1	1	2	1	2
5	138,67	79,60	281,36	10,64	0	1	1	1	2
6	81,33	77,80	300,44	13,61	0	0	1	1	3
7	60,00	67,20	240,95	11,82	0	0	1	1	2
8	33,33	68,30	265,74	11,10	0	0	2	1	1
9	41,50	68,00	281,36	5,63	0	1	2	1	1
10	46,67	68,00	300,44	9,89	0	0	1	0	1
11	52,50	72,00	220,66	8,33	0	0	1	1	1
12	75,50	73,70	249,60	9,22	0	0	1	1	1
13	53,67	63,20	296,43	6,68	0	1	1	1	2

Grup 3. <i>Escherichia coli</i>									
Fare No	Çalışılan Özellik								
	Bakteriyel yük (kob/ gr)	Kortikosteron (µg/ml)	TNF-α (pg/ml)	İl-6 (pg/ml)	Histopatoloji				
					Zona glomeruloza	Zona fasikulata (Konjesyon derecesi)	Zona retikularis (Konjesyon derecesi)	Medulla (Konjesyon derecesi)	Yağ hücresi
1	108,67	38,00	163,27	12,94	0	0	2	2	2
2	115,00	67,20	284,08	5,36	1	0	3	3	2
3	90,25	68,30	239,57	8,00	0	0	1	1	2
4	119,25	68,00	182,76	11,35	0	0	2	2	2
5	62,00	68,00	351,53	8,65	0	0	1	2	1
6	140,00	72,00	172,29	7,72	0	0	2	1	1
7	96,75	73,70	236,80	9,22	1	1	3	2	2
8	142,67	63,20	157,10	10,09	1	2	1	1	1
9	134,67	42,80	220,66	10,53	1	1	1	1	1
10	117,00	66,01	249,60	10,28	1	0	3	2	0
11	54,67	63,20	196,43	10,49	0	1	2	1	3
12	137,00	56,90	293,57	12,63	1	1	2	1	1
13	151,67	67,23	313,77	8,65	1	1	2	1	3
14	79,00	64,30	409,34	7,72	0	0	1	1	3
15	78,25	61,90	288,53	9,22	3	0	2	1	1

Grup 4. Kontrol									
Fare No	Çalışılan Özellik								
	Bakteriyel yük (kob/ gr)	Kortikosteron (µg/ml)	TNF-α (pg/ml)	İl-6 (pg/ml)	Histopatoloji				
					Zona glomeruloza	Zona fasikulata (Konjesyon derecesi)	Zona retikularis (Konjesyon derecesi)	Medulla (Konjesyon derecesi)	Yağ hücresi
1		80,60	207,74	10,09	0	1	0	0	0
2		77,72	172,41	10,53	0	0	0	0	0
3		74,51	212,96	9,33	1	0	0	1	0
4		79,79	203,47	2,43	0	0	0	0	0
5		69,52	161,58	5,73	0	0	0	0	0
6		77,42	195,74	7,33	0	1	0	0	0
7		74,96	114,60	9,94	0	0	0	0	0
8		71,48	137,97	1,70	0	0	0	1	0
9		78,02	178,60	6,14	1	0	0	0	0
10		75,08	158,62	8,16	0	0	0	0	0
11		81,13	166,55	9,36	0	0	0	0	0
12		77,76	240,37	5,96	0	1	0	0	0
13		77,72	276,30	6,46	0	0	0	0	0
14		74,51	256,35	7,90	0	1	0	0	0
15		79,79	254,37	7,65	0	0	0	0	0