

# Gram Negatif Basillerin Phoenix™ FX Sistemi ile Pozitif Sinyal Veren Kan Kültürü Şişelerinden Direkt Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

## Direct Identification and Determination of Antimicrobial Susceptibility of Gram Negative Bacilli Using the Phoenix™ FX System in Blood Cultures Flagging Positive

Yasemin GENÇ BAHÇE<sup>1</sup>, Alparslan TOYRAN<sup>2</sup>, Altan AKSOY<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Siirt Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Siirt.

<sup>1</sup> Siirt State Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Siirt, Turkey.

<sup>2</sup> Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara.

<sup>2</sup> Ankara Numune Training and Research Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Ankara, Turkey.

**Makale Atfı:** Genç Bahçe Y, Toyran A, Aksoy A. Gram negatif basillerin Phoenix™ FX sistemi ile pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden direkt tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi. Mikrobiyol Bul 2019;53(2):119-133.

### ÖZ

Kan dolaşımı enfeksiyonları dünya genelinde morbidite ve mortalitenin artışından sorumlu olan başlıca hastalıklardan biridir. Mikrobiyolojik analizlerin tamamlanma sürelerinin kısaltılması morbidite, mortalite ve sağlık giderlerinin önemli ölçüde azalmasına neden olmaktadır. Bu çalışmada, bakteriyel sepsis düşünülen hastalarda BD BACTEC™ FX (Becton Dickinson, ABD) sisteminde pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden doğrudan bakteri tanımlanması ve ardından gerçekleştirilen antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının Phoenix 100 (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) cihazındaki performansını değerlendirmek ve bu yöntemin raporlama süresine etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Çalışmada 10.08.2015-05.12.2015 tarihleri arasında sepsis ön tanısı ile yatan hastalardan alınan kan kültürü şişelerinden BD BACTEC™ FX (Becton Dickinson, ABD) sisteminde pozitif sinyal veren ve Gram boyamada gram negatif basil ya da kokobasil görülen kan kültürü şişeleri değerlendirilmiştir. Çalışmamızda pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden Phoenix paneline doğrudan inokülasyon yapılması işlemi "direkt Phoenix yöntemi" olarak tanımlanmıştır. Pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden alınan örneklerin BD Phoenix™ (Becton Dickinson, ABD) otomatize mikrobiyoloji sistemi ve "Bruker Biotyper matrix-associated laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) (Bruker Daltonics, Almanya)" yöntemleri karşılaştırılmış ve "direkt Phoenix yöntemi"nin testin sonuçlanma süresine etkisi ve konvansiyonel yöntemlerle uyumu gösterilmiştir. Çalışmaya 95 adet *Enterobacteriaceae* ailesine ait basil ile 26 adet nonfermenter gram negatif bakteri (NFGNB) ve bir adet *Aeromonas* spp. olmak üzere toplam 122 gram negatif bakteri dahil edilmiştir. Çalışmamızda Phoenix sistemi kullanarak gram negatif bakterileri doğrudan tanımlama ile sonuç raporlama süresi inokülasyondan sonra 2.25-7.84 saat aralığında (ortalama 2.56 saat) değişen sürede tamamlanmıştır. Direkt Phoenix yöntemi ile 122 gram negatif bakterinin tanımlanması, kültürde

**İletişim (Correspondence):** Uzm. Dr. Yasemin Genç Bahçe, Siirt Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Siirt, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 484 224 81 61-15 10, **E-posta (E-mail):** yasemingencbahce@gmail.com

üreme sonrası Maldi Biotyper (Bruker Daltonics, Almanya) ile yapılan tanımlama yöntemi ile karşılaştırıldığında cins düzeyinde %96.7 (118/122), tür düzeyinde %86.0 (105/122) oranında uyum göstermiştir. *Enterobacteriaceae* ailesine ait 95 adet bakteri cins ve tür düzeyinde sırasıyla %95.7 (91/95) ve %93.6 (89/95) oranında Maldi Biotyper cihazı ile uyumlu tanımlanmıştır. NFGNB'ler (n= 26) ise sırasıyla %96.1 (25/26) ve %61.5 (16/26) oranında cins ve tür düzeyinde Maldi Biotyper cihazı ile uyumlu olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızda gram negatif basiller için direkt Phoenix yöntemi ile antimikrobiyal duyarlılık test sonuçlarının raporlanma süresi inokülasyondan sonra 7.42-15.85 saat aralığında (ortalama 12.9 saat) değişen sürede tamamlanmıştır. Çalışmamızda 120 gram negatif bakteri [*Enterobacteriaceae* ailesine ait izolat (n= 95) ve NFGNB izolatı (n= 25)] için 2159 antimikrobiyal ilaç test edilmiştir. Hata oranı ise, küçük hata %2.0, büyük hata %1.1 ve çok büyük hata %1.2 olmak üzere %4.4 (96/2.159) olarak belirlenmiştir. Antimikrobiyal duyarlılık testlerinde bütün kategorilerdeki hata oranı < %10, çok büyük hata oranı < %1.5 ve büyük hata oranı < %3 olduğundan direkt Phoenix yönteminin konvansiyonel olarak uygulanan Phoenix yöntemi ile kabul edilebilir ölçüde uyum gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışma, pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden alınan örneğin direkt Phoenix yöntemiyle çalışılması halinde gram negatif bakteri kaynaklı bakteriyemilerde bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılıklarını belirleme sürelerini kısalttığını göstermiştir. Çalışmada elde edilen bu sonuç ile, hem hastaların erken klinik yarar sağlayabilmesi hem de hastane maliyetini azaltması açısından, kan kültür şişesinden yapılan direkt yöntemin yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Kan kültürü; gram negatif bakteri; hızlı tanımlama; antibiyotik duyarlılık testi; BD Phoenix sistemi.

## ABSTRACT

Bloodstream infections are one of the main causes of morbidity and mortality worldwide. Shortening the turnover time of microbiological analysis leads to a significant reduction of patient morbidity, mortality and medical care expenses. This study aimed to evaluate the performance of Phoenix 100 Instrument (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) system in bacterial identification and the evaluation of antibiotic susceptibility directly taken from positive blood culture bottles in BD BACTEC™ FX (Becton Dickinson, USA) system in patients with the suspicion of bacterial sepsis. In this study, blood culture bottles with a positive signal in BD BACTEC™ FX (Becton Dickinson, USA) system, and in which gram negative bacilli or coccobacilli was observed in Gram staining were evaluated. In our study, direct inoculation to the Phoenix panel from the blood culture bottles giving positive signal was defined as "direct Phoenix method". The blood culture bottles which were taken from hospitalized patients with a suspicion of sepsis, were analyzed comparatively by using BD Phoenix™ (Becton Dickinson, USA) automated microbiology system and "Bruker Biotyper matrix-associated laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)" (Bruker Daltonics, Germany) in the bottles of patients with the positive signals between August 10, 2015, and December 05, 2015. The effect of the "direct Phoenix method" on the duration of the test and the harmony with conventional methods was demonstrated. A total of 122 gram negative bacteria comprising 95 bacteria in *Enterobacteriaceae* family, 26 non-fermenting gram negative bacteria (NFGNB) and one *Aeromonas* spp. were included in the study. In our study, the reporting time of the identification of gram negative bacteria after inoculation with direct Phoenix method ranged from 2.25 hours to 7.84 hours (mean 2.56 hours). When the identification of 122 gram negative bacteria by direct Phoenix method was compared with the identification of Maldi Biotyper (Bruker Daltonics, Germany), an agreement was detected in 96.7% (118/122) of the samples at the genus level and in 86.0% (105/122) of the samples at the species level. Ninety-five bacteria belonging to *Enterobacteriaceae* family demonstrated an agreement of 95.7% (91/95) and 93.6% (89/95) at the genus and species levels with Maldi Biotyper respectively. Twenty-five NFGNB had an agreement of 96.1% (25/26) and 61.5% (16/26) at genus and species levels with Maldi Biotyper respectively. In our study, the reporting time of antibiotic susceptibility test results of gram negative rods after direct Phoenix method ranged from 7.42 hours to 15.85 hours (mean 12.9 hours). In our study, 2.159 antimicrobial agents were tested for 120 gram negative bacteria (95 strains belonging to *Enterobacteriaceae* family and 25 NFGNB). Minor error rate was found to be 2.0% with the direct Phoenix method, 1.1% major error rates, and 1.2% very major error

rates; making a total of 4.4% (96/2.159). Since error rates in all categories < 10%, very major error rate was < 1.5% and major error rate was < 3%, the direct Phoenix method had an acceptable agreement with the conventional Phoenix method. The direct inoculation of the Phoenix system with culture suspension obtained from positive blood culture bottles decreased reporting time of the identification and determination of the antibiotic susceptibilities for gram negative rods that cause bacteraemia. This result could be important in the clinical benefits for the patients as well as financial savings for the hospital.

**Keywords:** Blood culture; gram negative bacteria; rapid identification; antibiotic susceptibility test; BD Phoenix system.

## GİRİŞ

Sepsis, gelişen tedavi yöntemlerine rağmen yüksek mortalite ile seyreden bir hastalık olma özelliğini korumaktadır<sup>1</sup>. Özellikle gram negatif mikroorganizmalardan kaynaklanan bakteriyemik enfeksiyonlarda hızlı ve uygun ampirik tedavinin başlanmadığı durumlarda mortalitenin önemli oranlarda arttığı gözlenmiştir<sup>2,3</sup>.

Sepsisin mikrobiyolojik tanısında kan kültürleri anahtar role sahip olmakla birlikte etkinliği istenilen düzeyde değildir. Bazı hastalarda üreme sağlanamamakta ve sonuçların en az 48 saat sonra verilmesi nedeniyle hastalara ampirik tedavi başlanmaktadır<sup>4</sup>.

Günümüzde mikroorganizma tanısında ve antibiyotik duyarlılık testlerinde çeşitli otomatize sistemler kullanılmaktadır. Bu sistemlerde tanımlama kültürde üreme olduktan 24 saat sonra yapılmaktadır. Sepsis gibi acil tanı ve tedavi gerektiren durumda tanı için geciken her saat mortalite oranını %10-20 oranında arttırmaktadır<sup>5</sup>. Ayrıca, bu durum hastanede kalma süresini ve maliyeti önemli ölçüde olumsuz yönde etkilemektedir<sup>6</sup>.

Günümüzde kullanılan otomatize kan kültür sistemlerindeki gelişmelere rağmen kan kültürünün teknik sınırlamaları ortadan kaldırılmış değildir. Buna ek olarak, sepsiste mikrobiyolojik tanıya katkı sağlamak üzere kan kültürüne ek hızlı tanı testlerinin geliştirilmesi ve mikrobiyoloji tanı laboratuvarlarında kullanımlarının farklı hasta gruplarında araştırılmasına gereksinim vardır<sup>7</sup>. Hızlı tanı için nükleik asit problemleri ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi çeşitli moleküler teknikler geliştirilmesine rağmen, hala en duyarlı ve güvenilir yöntem kan kültürüdür<sup>8,9</sup>.

Bu çalışmada, bakteriyel sepsis düşünülen hastalarda pozitif kan kültürü şüphelerinden doğrudan bakteri tür tanımlamasında ve bakteri türüne ait antibiyotik duyarlılık test (ADT)'inde BD Phoenix (Becton Dickinson, ABD) sisteminin performansını değerlendirmek ve raporlama süresini ne kadar kısalttığını göstermek amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, 10.08.2015-05.12.2015 tarihleri arasında prospektif olarak gerçekleştirildi. Çalışmaya, sepsis ön tanısı konulan hastalardan alınan kan kültürü şüphelerinden BD BACTEC™ FX (Becton Dickinson, ABD) otomatize kan kültürü sisteminde pozitif üreme sinyali veren, sonrasında Gram boyamada gram negatif bakteri görülen ve pasajında tek

bir patojen üreme tespit edilen kan kültürü şişeleri dahil edildi. Çalışmada bir gecelik inkübasyon sonrası birden fazla etken üremesi gözlenen örnekler polimikrobiyal kültürlerden kaynaklanabilecek hataların dışlanması amacıyla analize dahil edilmedi. Tüm veriler yalnız monomikrobik kan kültür üremesi olan örneklerde gerçekleştirildi.

### **Pozitif Sinyal Veren Kan Kültüründen Phoenix Panel İnokülasyonu**

Hastanemiz merkez laboratuvarına gönderilen kan kültürü şişeleri rutin olarak BD BACTEC™ FX (Becton Dickinson, ABD) kan kültürü cihazında 37°C'de beş gün inkübe edildi. Pozitif sinyal veren kan kültürlerinden Gram boyama yapılarak direkt mikroskopik inceleme yapıldı. Buna göre üreme sinyali alınan kan kültürü şişelerinden 1 ml örnek kanlı agar, MacConkey agar ve Gram boyama sırasında fungal eleman görülmesi halinde ise Sabouraud dekstroz agar (SDA)'a ekim yapılarak 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Üreyen mikroorganizmaların tanımlanması için Maldi Biotyper (Bruker Daltonics, Almanya) veya Phoenix 100 cihazı (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) kullanıldı. Etken olduğu düşünülen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılık testleri Phoenix 100 cihazı (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) ile gerçekleştirildi. Toplam beş günlük inkübasyon sonunda sinyal vermeyen kan kültürleri negatif olarak kabul edildi. Çalışmamıza dahil ettiğimiz bütün örnekler üretici firma önerileri doğrultusunda konvansiyonel Phoenix yöntemi ile çalışıldı ve Maldi Biotyper (Bruker Daltonics, Almanya) ile tanımlandı.

### **Pozitif Sinyal Veren Kan Kültüründen Doğrudan Phoenix Panel İnokülasyonu (Direkt Phoenix Yöntemi)**

Çalışmaya dahil edilen kan kültürü şişeleri öncelikle hafifçe çalkalandıktan sonra "vacutainer holder" ile serum ayırma tüpüne (SST) 8.5 ml aspire edildi. Daha sonra SST tüpü 10 dakika 2000 xg'de santrifüj edildi. Tüpteki süpernatant döküldükten sonra jelin alt kısmında bulunan bakteri 0.5-1.0 ml "Bakteri tanımlama buyyon (ID broth)"u ile süspansiyon edilerek McFarland 0.5 bulanıklığında ayarlandı. ADT'yi gerçekleştirmek için 40 µl antimikrobiyal duyarlılık test (AST) indikatörü bulunan "AST buyyonu (AST broth)"na 25 µl kadar tanımlama buyyonu eklenip hafifçe karıştırılarak hazırlanan buyyon, "GN Phoenix Combo" paneline inoküle edildi. İnokülasyon panelleri 30 dakika içerisinde Phoenix cihazına yerleştirildi. Tanımlama buyyonu, katı besiyerine pasaj yapılarak süspansiyonda bakteri olup olmadığı kontrol edildi. Çalışmamızda pozitif sinyal veren kan kültürü şişelerinden Phoenix paneline doğrudan inokülasyon yapılması "direkt Phoenix yöntemi" olarak tanımlandı.

### **Pozitif Sinyal Veren Kan Kültüründen "Matrix-associated Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS)" ile Tanımlama**

Yöntemin uygulanması sonrasında elde edilen spektrumlar "Maldi Biotyper software version 3.0" (Bruker Daltonics, Almanya) ile analiz edildi. Spektrum skorları  $\geq 2.0$  olan tanımlamalar tür düzeyinde güvenilir, 1.70-1.99 olanlar cins düzeyinde güvenilir olarak tanımlandı. Skorları  $< 1.70$  olan tanımlar güvenilir kabul edilmedi.

Çalışmamızda direkt Phoenix yönteminden elde edilen bakteriyel tanımlama ve duyarlılık testlerinin verileri, konvansiyonel Phoenix yönteminden elde edilen verilerle karşılaştırıldı. Çalışmaya alınan izolatlar “doğru tanımlanmış”, “cins düzeyinde doğru tanımlanmış”, “tür düzeyinde doğru tanımlanmış”, “yanlış tanımlanmış” ve “tanımlanmamış” olarak sınıflandırıldı.

Bütün izolatlar için test edilen duyarlılık sonuçları Phoenix 100 cihazının (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) uzman önerilerine göre duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olmak üzere üç klinik kategoriye ayrıldı. Tutarlılık ve farklılıklar; *i*) uyumlu (aynı klinik kategori), *ii*) çok büyük hata (yanlış duyarlılık), *iii*) büyük hata (yanlış direnç), *iv*) küçük hata (orta duyarlı sonucun duyarlı/dirençli raporlanması) şeklinde sınıflandırıldı.

*Enterobacteriaceae* ailesine ait her bir bakteri için toplam 19 antimikrobiyal ilaç konvansiyonel ve direkt Phoenix yöntemiyle çalışıldı. Bu antibiyotikler; amikasin, amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin, aztreonam, sefepim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, siprofloksasin, kolistin, ertapenem, gentamisin, imipenem, meropenem, netilmisin, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, tigesiklin ve trimetoprim-sülfametoksazol olarak belirlendi. Cihaza yüklenen ADT panellerindeki antibiyotik kuyucuklarında üreme olmaması halinde minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) sonuçları değerlendirme dışı bırakıldı.

Laboratuvarımızda kullanılan Phoenix cihazı ile gerçekleştirilen AST sonucunda elde edilen MİK değerleri EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) 2015 önerilerine göre yorumlandı<sup>10</sup>.

## BULGULAR

Çalışmaya 95 adet *Enterobacteriaceae*, 26 adet nonfermenter gram negatif bakteri (NFGNB) ve bir adet *Aeromonas* spp. olmak üzere toplam 122 gram negatif bakteri dahil edilmiştir. Çalışmada polimikrobiyal üreme olan 14 klinik örnek çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 122 klinik örneğin 89 (%72.9)'u aerobik kan kültürü şişelerinde, 33 (%27.0)'ü anaerobik kan kültürü şişelerinde üreme göstermiştir.

Maldi Biotyper ile toplam 122 gram negatif bakterinin 14 (%11.4)'ü < 2.0 güven skoru ile cins düzeyinde güvenilir olarak tanımlanmıştır. Geriye kalan 108 (%88.5) bakteri ≥ 2.0 skoru ile tür düzeyinde güvenilir olarak tanımlanmıştır. *Escherichia* spp.'de 5 (%9.4), *Klebsiella* spp.'de 2 (%7.6), *Pseudomonas* spp.'de 1 (%14.2), *Enterobacter* spp.'de 3 (%33.3), *Acinetobacter* spp.'de 5 (%20.0) izolat cins düzeyinde güvenilir olarak tanımlanmıştır. Hiçbir izolat Maldi Biotyper ile güvenilir olmayan aralıkta (< 1.7 skor) tanımlanmamıştır.

Çalışmamızdaki gram negatif bakterilerin direkt Phoenix yöntemi ile tanımlanma süresi inokülasyondan sonra 2.25-7.84 saat aralığında (ortalama 2.56 saat) olarak belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen bakterilerin tanımlanmasında direkt Phoenix yöntemi ve konvansiyonel Phoenix yönteminin doğruluğu, kan kültürü pasajlarından Maldi Biotyper ile

yapılan tanımlamalarla ayrı ayrı karşılaştırılmıştır. Konvansiyonel Phoenix yöntemi ile 122 gram negatif bakterinin tanımlanmasında Maldi Biotyper cihazı ile kan kültür pasajından yapılan tanımlamayla karşılaştırıldığında cins düzeyinde %100 (122/122), tür düzeyinde ise %90.9 (111/122) oranında kabul edilebilir düzeyde uyum olduğu gözlenmiştir. *Enterobacteriaceae* ailesine ait bakteriler ile NFGNB'ler ayrı ayrı değerlendirildiğinde, *Enterobacteriaceae* ailesine ait bakteriler (n= 95) sırasıyla %100 (95/95) ve %94.7 (90/95) oranında cins ve tür düzeyinde Maldi Biotyper cihazı ile uyumlu olarak tanımlanmıştır. NFGNB izolatları (n= 25) ise sırasıyla %100 (26/26) ve %80.7 (21/26) oranında cins ve tür düzeyinde Maldi Biotyper cihazı ile uyumlu tanımlanmıştır. *Aeromonas* cinsi tek bir izolat konvansiyonel Phoenix yöntemiyle *Aeromonas sobria*, kan kültür pasajından Maldi Biotyper yöntemi ile *Aeromonas veroni* olarak tanımlanmıştır.

Çalışmaya dahil edilen 122 gram negatif bakterinin tanımlanmasında direkt Phoenix yöntemi, Maldi Biotyper cihazı ile kan kültür pasajından yapılan tanımlamayla karşılaştırıldığında cins düzeyinde %96.7 (118/122), tür düzeyinde %86.0 (105/122) oranında uyum olduğu tespit edilmiştir. *Enterobacteriaceae* ailesine ait bakteriler (n= 95) cins ve tür düzeyinde sırasıyla %95.7 (91/95) ve %93.6 (89/95) oranında Maldi Biotyper cihazı ile uyumlu tanımlanmıştır. NFGNB izolatları (n= 25) ise sırasıyla %96.1 (25/26) ve %61.5 (16/26) oranında cins ve tür düzeyinde Maldi Biotyper cihazı ile uyumlu olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda direkt Phoenix yöntemi ile tanımlanan 122 gram negatif bakterinin 118 (%96.7)'i cins düzeyinde doğru tanımlanmıştır. Dört izolat ise direkt Phoenix yöntemi ile yanlış tanımlanmıştır. Direkt Phoenix yöntemi ile yanlışlıkla *Pantoea agglomerans* olarak tanımlanan izolat konvansiyonel Phoenix yöntemi ve Maldi Biotyper ile yapılan tanımlamalarda *Acinetobacter baumannii* olarak tanımlanmıştır. Direkt Phoenix yöntemi ile *Serratia fonticola* ve *Citrobacter braaki* olarak tanımlanan izolatlar ise Maldi Biotyper cihazında *Enterobacter cloacae*, konvansiyonel Phoenix yöntemiyle ise sırasıyla *Enterobacter cloacae* ve *Enterobacter aerogenes* olarak tanımlanmıştır. Direkt Phoenix yöntemiyle *Kluyvera ascorbata* olarak tanımlanan izolat diğer iki yöntemle de *Escherichia coli* olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızdaki 26 adet NFGNB'nin 25 (%96.1)'i cins düzeyinde üç yöntemle de aynı tür olarak tanımlanmıştır (Tablo I).

Çalışmamızda gram negatif basiller için direkt Phoenix yöntemiyle antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarının raporlanma süresi inokülasyondan sonra 7.42-15.85 saat aralığında (ortalama 12.9 saat) olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda 120 gram negatif bakteri [*Enterobacteriaceae* ailesine ait izolat (n= 95) ve NFGNB (n= 25)] için direkt Phoenix yöntemiyle 2159 antimikrobiyal ilaç test edilmiştir ve konvansiyonel Phoenix yöntemi ile karşılaştırılmıştır (Tablo II). Genel olarak bütün antimikrobiyal ilaçlar için kategorik uyum %95.5 oranında tespit edilmiştir. Amikasin, ampisilin, aztreonam, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, siprofloksasin, kolistin, gentamisin, netilmisin ve piperasilin-tazobaktam için sonuç verilen ADT'lerde bütün kategorilerdeki

**Tablo I.** Gram Negatif Bakteri İzolatlarının Üç Farklı Yöntemle Tanımlanması (n= 122)

Bakteri izolatı	Kültürde üreme sonucu		
	Direkt Phoenix yöntemi	Konvansiyonel Phoenix yöntemi	MALDI-TOF MS ile tanımlama
<i>Escherichia coli</i>	52	53	53
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	26	26	26
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1	1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	9	14	14
<i>Acinetobacter lwoffii/haemolyticus</i>	2	0	0
<i>Acinetobacter spp.</i>	3	1	0
<i>Acinetobacter pittii</i>	0	0	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	7	7
<i>Pseudomonas putida</i>	2	2	0
<i>Pseudomonas spp.</i>	1	1	0
<i>Pseudomonas montellii</i>	0	0	2
<i>Pseudomonas fulva</i>	0	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	6	4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	3	2
<i>Enterobacter ludwigi</i>	0	0	1
<i>Enterobacter asburiae</i>	0	0	2
<i>Morganella morganii</i>	1	1	1
<i>Salmonella spp.</i>	2	2	4
<i>Salmonella typhi</i>	2	2	0
<i>Aeromonas sobria</i>	1	1	<i>Aeromonas veronii</i>
<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Aeromonas sobria</i>	<i>Aeromonas sobria</i>	1
<i>Burkholderia cepacia</i> kompleks	1	1	<i>Burkholderia cenocepacia</i>
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	<i>Burkholderia cepacia</i> kompleks	<i>Burkholderia cepacia</i> kompleks	1
<i>Serratia fonticola</i>	1	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Citrobacter braaki</i>	1	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1	1
<i>Pantoea agglomerans</i>	1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Kluyvera ascorbata</i>	1	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
Toplam	122	122	122

hata oranı < %10, çok büyük hata oranı < %1.5 ve büyük hata oranı < %3 olduğundan konvansiyonel Phoenix yöntemi ile kabul edilebilir düzeyde uyum gösterdiği bulunmuştur (Tablo II).

**Tablo II.** *Enterobacteriaceae* Ailesine Ait İzolatların (n= 95) ve Nonfermenter Gram Negatif Bakterilerin (n= 25) Direkt Phoenix Yöntemi ile Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçlarının Hata ve Uyum Oranları

Antibiyotik	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli	Küçük hata	Büyük hata	Çok büyük hata	Kategorik uyum oranı
Amikasin	106	4	10	1 (%0.8)	0	1 (%0.8)	%98.3
Amoksisilin-klavulanik asit	46	0	74	0	0	5 (%4.1)	%95.8
Ampisilin	20	0	91	0	0	1 (%0.9)	%99.0
Aztreonam	57	8	55	3 (%2.5)	0	0	%97.5
Sefepim	63	6	35	6 (%5.7)	3 (%2.8)	2 (%1.9)	%89.4
Seftazidim	65	4	37	1 (%0.9)	0	0	%99.0
Seftriakson	54	0	57	0	2 (%1.8)	0	%98.1
Sefuroksim	44	0	72	0	0	1 (%0.8)	%99.1
Siprofloksasin	60	3	54	1 (%0.8)	1 (%0.8)	1 (%0.8)	%97.4
Kolistin	108	0	12	0	2 (%1.6)	0	%98.3*
Ertapenem	80	0	32	1 (%0.8)	6 (%5.3)	3 (%2.6)	%91.0
Gentamisin	82	0	37	0	0	0	%100
İmipenem	89	7	19	6 (%5.2)	4 (%3.4)	1 (%0.8)	%90.4
Meropenem	88	6	25	6 (%5.0)	4 (%3.3)	2 (%1.6)	%89.9
Netilmisin	73	3	43	1 (%0.8)	1 (%0.8)	0	%98.3
Piperasilin	41	1	63	1 (%0.9)	0	4 (%3.8)	%95.2
Piperasilin-tazobaktam	75	2	29	4 (%3.7)	1 (%0.9)	2 (%1.8)	%93.3
Tigesiklin	57	26	20	11 (%10.6)	0	0	%89.3
Trimetoprim-sülfametoksazol	56	3	57	3 (%2.5)	1 (%0.8)	3 (%2.5)	%93.9
Toplam	2159 antimikrobiyal ilaç			45 (%2.0)	25 (%1.1)	26 (%1.2)	%95.5

\* Sıvı mikrodilüsyon çalışılmadan kategorik uyum hesaplanmıştır.

Çalışmamızdaki *Enterobacteriaceae* ailesine ait 95 gram negatif bakterinin 19 antimikrobiyal ilaca karşı duyarlılıkları test edilmiştir. Toplamda 1792 antimikrobiyal ilaç çalışılmıştır. Bunların %95.9 (1.719/1.792)'u kategorik uyum göstermiştir. Genel olarak %1.8 (34/1.792) küçük hata, %1.0 (19/1.792) büyük hata ve %1.1 (20/1.792) çok büyük hata olmak üzere %4.0 (73/1.792) hata oranı bulunmuştur (Tablo III).

GN Phoenix Combo panelindeki antimikrobiyal maddelerden yalnızca siprofloksasin ve gentamisin 95 adet *Enterobacteriaceae* izolatu için tamamen kategorik uyum göstermiştir. Amikasin, ampisilin, aztreonam, sefepim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, siprofloksasin, kolistin, gentamisin, imipenem ve netilmisin için kabul edilebilir ADT kategorik uyumu bulunmuştur.



**Tablo III.** Enterobacteriaceae Ailesine Ait İzolatların (n= 95) Direkt Phoenix Yöntemiyle Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları, Hata ve Uyum Oranları

Antibiyotik	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli	Küçük hata	Büyük hata	Çok büyük hata	Kategorik uyum oranı
Amikasin	91	1	3	0	0	1 (%1.0)	%98.9
Amoksisilin-klavulanik asit	46	0	49	0	0	5 (%5.2)	%94.7
Ampisilin	20	0	75	0	0	1 (%1.0)	%98.9
Aztreonam	57	3	35	1 (%1.0)	0	0	%98.9
Sefepim	56	6	31	6 (%6.4)	2 (%2.1)	1 (%1.0)	%90.3
Seftazidim	58	4	33	1 (%1.0)	0	0	%98.9
Seftriakson	54	0	41	0	2 (%2.1)	0	%97.8
Sefuroksim	44	0	47	0	0	1 (%1.0)	%98.9
Siprofloksasin	52	0	40	0	0	0	%100
Kolistin	83	0	12	0	2 (%2.1)	0	%97.8*
Ertapenem	79	0	16	1 (%1.0)	6 (%6.3)	2 (%2.1)	%90.5
Gentamisin	68	0	27	0	0	0	%100
İmipenem	79	7	6	6 (%6.5)	2 (%2.1)	0	%91.3
Meropenem	82	2	11	1 (%1.0)	3 (%3.1)	1 (%1.0)	%94.7
Netilmisin	63	3	29	1 (%1.0)	0	0	%98.9
Piperasilin	34	1	59	1 (%1.0)	0	3 (%3.1)	%95.7
Piperasilin-tazobaktam	68	2	25	4 (%4.2)	1 (%1.0)	2 (%2.1)	%92.6
Tigesiklin	57	26	12	11 (%11.5)	0	0	%88.4
Trimetoprim-sülfametoksazol	53	0	42	1 (%1.0)	1 (%1.0)	3 (%3.1)	%94.7
Toplam	1792 antimikrobiyal ilaç			34 (%1.8)	19 (%1.0)	20 (%1.1)	%95.9

\* Sıvı mikrodilüsyon çalışılmadan kategorik uyum hesaplanmıştır.

Çalışmamızdaki 122 gram negatif bakteride konvansiyonel Phoenix yöntemi ile 35 izolatta, direkt Phoenix yöntemi ile 37 izolatta direnç paterni [genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) ve potansiyel karbapenemaz üretimi (PKP)] saptanmıştır. Direkt Phoenix yönteminde direnç paterni olan 37 izolatın 31 (%83.7)'i konvansiyonel Phoenix yöntemiyle uyumlu tanımlanmıştır. Bunlardan direkt Phoenix yöntemi raporlarının GSBL uyumu %88.8 (24/27)'dir. Direkt Phoenix yöntemi ile GSBL ürettiği belirlenen izolatların ADT sonuçları konvansiyonel Phoenix yöntemiyle karşılaştırıldığında amikasin, ampisilin, seftriakson, sefuroksim, siprofloksasin, meropenem ve piperasilin için klinik kategoride %100 uyum saptanmıştır. Piperasilin-tazobaktam dışındaki bütün antibiyotikler için %90'ın üzerinde kategorik uyum bulunmuştur. Yirmi dört GSBL üreten izolat için değerlendirilen 454 antimikrobiyal ilaçta %2.6 küçük hata, %0.8 büyük hata ve %0.8 çok büyük hata olmak üzere %4.4 hata oranı ve %95.5 kategorik uyum gösterilmiştir.

**Tablo IV.** Nonfermenter Gram Negatif Bakterinin (n= 25) Direkt Phoenix Yöntemiyle Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları, Hata ve Uyum Oranları

Antibiyotik	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli	Küçük hata	Büyük hata	Çok büyük hata	Kategorik uyum oranı
Amikasin	15	3	7	1 (%4.0)	0	0	%96.0
Amoksisilin-klavulanik asit	0	0	25	0	0	0	%100
Ampisilin	0	0	16	0	0	0	%100
Aztreonam	0	5	20	2 (%8.0)	0	0	%92.0
Sefepim	7	0	4	0	1 (%9.0)	1 (%9.0)	%81.8
Seftazidim	7	0	4	0	0	0	%100
Seftriakson	0	0	16	0	0	0	%100
Sefuroksim	0	0	25	0	0	0	%100
Siprofloksasin	8	3	14	1 (%4.0)	1 (%4.0)	1 (%4.0)	%88.0
Kolistin	25	0	0	0	0	0	%100*
Ertapenem	1	0	16	0	0	1 (%5.8)	%94.1
Gentamisin	14	0	10	0	0	0	%100
İmipenem	10	0	13	0	2 (%8.6)	1 (%4.3)	%86.9
Meropenem	6	4	14	5 (%20.8)	1 (%4.1)	1 (%4.1)	%70.8
Netilmisin	10	0	14	0	1 (%4.1)	0	%95.8
Piperasilin	7	0	4	0	0	1 (%9.0)	%90.9
Piperasilin-tazobaktam	7	0	4	0	0	0	%100
Tigesiklin	0	0	8	0	0	0	%100
Trimetoprim-sülfametoksazol	3	3	15	2 (%9.5)	0	0	%90.4
Toplam	367 antimikrobiyal ilaç			11 (%2.9)	6 (%1.6)	6 (%1.6)	%93.7

\* Sıvı mikrodilüsyon çalışılmadan kategorik uyum hesaplanmıştır.

Çalışmamızda NFGNB'de (n= 25) (*Burkholderia cepacia* kompleks hariç) 367 antimikrobiyal ilaç test edilmiştir. Bu bakteriler için direkt ve konvansiyonel Phoenix yöntemlerinin antibiyotik duyarlılık test sonuçları %93.7 (344/367) oranında uyum göstermiştir. Amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, kolistin, gentamisin, piperasilin-tazobaktam ve tigesiklin ADT klinik kategorilerinde %100 uyum bulunmuştur (Tablo IV).

## TARTIŞMA

Otomatize sistemler, kan dolaşımındaki bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testleri için yıllardır kullanılmaktadır<sup>11</sup>. Ancak bu sistemlerde kullanılan kültür sistemine dayalı tanı kan kültüründen katı besiyerine yapılan pasajın 18-24 saat inkü-

basyonu nedeniyle zaman alıcıdır. Raporlama süresini kısaltmak için pozitif kan kültürü şişelerinden direkt inokülasyonun uygulamasını gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur, bu çalışmaların çoğu tanımlama ve ADT sonuçları açısından gram negatif bakterilerin %80'den fazla oranda doğru tanımlandığını ve %3'ten az oranda büyük hata verdiğini, sonuçların kabul edilebilir doğrulukla rapor verme süresini kısalttığını göstermektedir. Ne var ki, gram pozitif koklar için yapılan çalışmalar nispeten başarısız sonuçlar vermiştir<sup>12-14</sup>.

Japonya'da yapılan bir çalışmada direkt Phoenix yöntemi ile 101 gram negatif bakterinin %99 (100/101)'u cins düzeyinde, 97 (98/101)'si tür düzeyinde doğru olarak tanımlanmıştır<sup>15</sup>. Hazelton ve arkadaşları<sup>16</sup> 64 gram negatif bakterinin 63 (%98.4)'ünde pozitif kan kültürü şişelerinden doğrudan MALDI TOF ile tanımlamanın kültürden pasaj ile üretme sonucu Phoenix cihazı ile yapılan tanımlamayla tür düzeyinde uyumlu olduğunu bulmuşlardır. Lee ve arkadaşları<sup>17</sup> iki farklı örnek hazırlama yöntemi [saponin yöntemi (SAP) ve (saponin + Sputazyme) yöntemi (SSPZ)] kullanarak MALDI-TOF MS ile 64 gram negatif izolatu direkt kan kültürü şişelerinden SAP yöntemi ve SSPZ yöntemi ile sırasıyla %82.8, %87.5 oranında doğru olarak tanımlamışlardır. Maelegheer ve arkadaşları<sup>14</sup> Maldı Biotyper kullanarak çalıştıkları direkt tanımlama sonuçlarını gram negatif bakteriler için %97 (44/45) oranında mikrobiyoloji tanı laboratuvarı sonuçları ile uyumlu bulmuşlardır. Doğrudan pozitif kan kültürü şişelerinden çalışılan gram negatif bakterilerin tanımlanmasındaki doğruluk oranları daha önceki çalışmalarda da benzer düzeyde bulunmuştur<sup>18-20</sup>. Çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer olarak gram negatif bakterilerin tanımlanmasında yöntemler arasında cins ve tür düzeyinde yüksek oranda uyum bulunmuştur.

Ling ve arkadaşları<sup>21</sup> VİTEK 2 cihazı ile yaptıkları direkt inokülasyon yöntemini kullandıkları çalışmada 89 NFGNB ve 173 *Enterobacteriaceae* üyesi bakterinin tür düzeyinde doğru tanımlanma oranlarını sırasıyla %91.1 ve %97.1 olarak saptamışlardır. Brezilya'da 2018 yılında VİTEK 2 cihazı ile direkt kan kültürü şişelerinden yapılan bir çalışmada yedi NFGNB ve 30 *Enterobacteriaceae* üyesi bakteri tür düzeyinde %100 oranında rutin VİTEK 2 cihazı yöntemi ile uyumlu tanımlanmıştır<sup>22</sup>. Bizim çalışmamıza dahil ettiğimiz gram negatif bakteriler, *Enterobacteriaceae* ailesine ait bakteriler ve NFGNB'ler olarak ayrı ayrı değerlendirildiğinde, direkt Phoenix yöntemi ile 95 *Enterobacteriaceae* ailesine ait bakteri cins ve tür düzeyinde sırasıyla %95.7 (91/95) ve %93.6 (89/95) oranında Maldı Biotyper cihazı ile uyumlu olarak tanımlanmıştır. Yirmi altı NFGNB ise sırasıyla %96.1 (25/26) ve %61.5 (16/26) oranında cins ve tür düzeyinde Maldı Biotyper cihazı ile uyumlu olarak tanımlanmıştır.

Bakteri tanımlaması için yeni bir yöntem seçerken, referans sistemle en azından %90 tam uyum gösteren ve yaygın olarak izole edilen mikroorganizmaları en az %95 doğrulukla tanımlayan sistemler önerilmektedir<sup>23</sup>. Çalışmamızda elde edilen bakteri tanımlama sonuçlarını bu doğrultuda değerlendirdiğimizde, direkt Phoenix yöntemiyle yapılan tanımlamanın kabul edilebilirliği umut verici bulunmuştur.

Direkt inokulum yöntemi ile bakteri tanımlamasındaki hatanın en büyük nedeni standardize olmayan inokulum miktarıdır. Kan kültürü şişelerindeki düşük bakteri inokulum miktarları (3-9 ml) daha önceki çalışmalarda bildirilen direkt tanımlamalardaki yüksek hata oranlarının nedeni olabilir<sup>15</sup>.

Hatanın diğer bir nedeni ise polimikrobiyal kan kültürleridir. Başlangıçta yapılan Gram boyamada monomikrobiyal görülen örneklerin %6-10'unda pasajlarda polimikrobiyal üremeler bildirilmiştir<sup>13</sup>.

Çalışmamızda pasajlarda üreyen kolonilerin Maldi Biotyper ile yapılan tanımlaması altın standart olarak kabul edilmiştir. Uyumsuz tanımlamaların dizi analizi gibi altın standart bir yöntemle doğrulanması sonuçların daha doğru yorumlanmasına katkıda bulunabilirdi.

Çalışmamızda direkt Phoenix yöntemiyle gram negatif bakteriler ortalama 2.56 saatte tanımlanmıştır. Bu süre pozitif kan kültürü şişelerinin konvansiyonel Phoenix yöntemiyle tanımlanmasında iki güne kadar uzamaktadır<sup>24,25</sup>. Direkt Phoenix yöntemi ile antimikrobiyal duyarlılık sonuçları ortalama inkübasyondan 12.9 saat sonra sonuçlanmıştır. Direkt Phoenix yöntemi uygun tedaviye konvansiyonel yöntemlerden 1-2 gün önce başlanmasına ve daha iyi hasta yönetimine olanak sağlamaktadır<sup>24,25</sup>. Direkt Phoenix yöntemindeki ek prosedür yöntemin süresini yaklaşık olarak yarım saat uzatmaktave maya gibi uygun olmayan örnekleri dışlamak için işlem öncesi her zaman Gram boyama yapılmasında fayda bulunmaktadır. Ayrıca, direkt Phoenix yönteminde kullanılan test tüpünün maliyeti konvansiyonel Phoenix yönteminde kullanılan kanlı agar maliyeti ile hemen hemen aynıdır. Bu yüzden direkt Phoenix yönteminin toplam maliyeti ile konvansiyonel Phoenix yönteminin toplam maliyeti arasında önemli bir fark yoktur.

Munoz-Dávila ve arkadaşları<sup>26</sup> VİTEK 2 otomatize sistemi ile yaptıkları direkt inokülasyon yöntemi ile 142 gram negatif bakteri için 2414 antimikrobiyal ilacı test etmişlerdir. Munoz-Dávila ve arkadaşları<sup>26</sup> bu çalışmalarında %0.6 (14/2.414)'sı çok büyük hata, %0.1 (3/2.414)'i büyük hata ve %2.0 (50/2.414)'i küçük hata olmak üzere genel olarak %2.8 (67/2.414) oranında hata oranı ve %97.4 (2.352/1.414) oranında tam kategorik uyum saptamışlardır. İtalya'da 2015 yılında direkt Phoenix yöntemi ile yapılan bir çalışmada, 78 adet gram negatif bakterinin ADT sonuçları bildirilmiş ve 1017 adet izolat/antimikrobiyal ilaç kombinasyonu için değerlendirme yapılmıştır<sup>27</sup>. Yine bu çalışmada %0.1 çok büyük hata, %1.5 büyük hata ve %2.4 küçük hata olmak üzere genel olarak %4 hata oranı tespit edilmiştir<sup>27</sup>. Barman ve arkadaşları<sup>28</sup> gram negatif bakteri içeren 100 monomikrobiyal kan kültürü şişesinde VİTEK 2 cihazı kullanarak, direkt ADT sonuçlarını konvansiyonel ADT sonuçları ile karşılaştırdıklarında %99.74 oranında kategorik uyum bulmuşlardır. Lemos ve arkadaşları<sup>22</sup> VİTEK 2 otomatize sistemini kullanarak, kan kültürlerindeki 37 gram negatif bakterinin konvansiyonel ve direkt yöntemle çalışılan ADT sonuçları arasında %95 oranında uyum bulmuşlardır. Bu çalışmada gram negatif bakterilerin ADT sonuçlarındaki küçük hata oranı %2.3, büyük hata oranı %1.1 ve çok büyük hata oranı %1.6 olarak saptanmıştır<sup>22</sup>. Çalışmamızda ise 120 gram negatif bakteri için 2159 antimikrobiyal ilaç test edilmiştir. Bütün antimikrobiyal ilaçlar için %95.5 ora-

nında kategorik uyum bulunmuştur. Çalışmamıza dahil ettiğimiz bakteriler için raporlanan ADT'lerde bütün kategorilerdeki hata oranı < %10, çok büyük hata oranı < %1.5 ve büyük hata oranı < %3 olduğundan kabul edilebilir sonuçları elde edilmiştir.

Çalışmamızda, GSBL üreten izolatların tedavisinde tercih edilen karbapenemlerin kategorik uyumu imipenem için %91.6, meropenem için %100 bulunmuştur. İmipenem sonuçlarında bu izolatlar için sadece %8.3 oranında minör hata saptanmıştır. Bu sonuçlar dirençli izolatların erken ve uygun tedavi edilmesi açısından sevindiricidir. Daha geniş çalışmalarla desteklenmelidir.

Yonetania ve arkadaşları<sup>15</sup> 2012 yılında yaptıkları çalışmada BD Phoenix sisteminin direkt inokülasyon yöntemi ile *Enterobacteriaceae* ailesine ait 78 adet gram negatif bakterinin 21 antimikrobiyal ilaca karşı duyarlılıklarını test etmiş ve bu bakterilerde %99.5 oranında kategorik uyum saptamışlardır. Aynı çalışmada 23 adet NFGNB için test edilen 20 antimikrobiyal ilaca duyarlılık sonuçları %91.1 kategorik uyum, %0.2 küçük hata olarak belirlenmiştir ve izolatların %8.7'sinde duyarlılık tespit edilememiştir<sup>15</sup>. Çalışmamızda ise *Enterobacteriaceae* ailesine ait 95 adet gram negatif bakterinin 19 antimikrobiyal ilaca duyarlılıkları test edilmiştir. Amikasin, ampisilin, aztreonam, sefepim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, siprofloksasin, kolistin, gentamisin, imipenem ve netilmisin için kabul edilebilir ADT kategorik uyumu bulunmuştur.

Çalışmamızda NFGNB'lerin ADT sonuçlarında sefepim dışındaki sefalosporinler, ampisilin, amoksisilin-klavulanik asit, piperasilin-tazobaktam ve çok ilaca dirençli izolatların tedavisinde tercih edilen tigesiklin ve kolistin için %100 klinik kategorik uyum bulunması sepsis hastalarının erken ve doğru tedavisi için umut vericidir. Bunun yanı sıra *Pseudomonas* enfeksiyonlarında ilk tercih olan seftazidim antibiyotiği için %100 kategorik uyum bulunması anlamlıdır.

Çalışmamızda antimikrobiyal ilaç duyarlılığının belirlenmesinde sadece otomatize Phoenix sistemi kullanılmıştır. Direkt ve konvansiyonel Phoenix yöntemi ile uyumsuz çıkan kolistin duyarlılık sonuçları sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle doğrulanmamıştır. Kolistin için kategorik uyum oranları otomatize Phoenix sisteminin ADT sonuçlarına göre belirlenmiştir.

Çalışmamızda kullanılan direkt Phoenix yöntemi ile gram negatif bakterilerin tanımlama ve ADT'lerinin konvansiyonel Phoenix yöntemi ile yüksek uyumu, direkt Phoenix yönteminin tanısallık mikrobiyoloji laboratuvarlarında kabul edilebilir olduğunu göstermiş ve çalışmanın sonuçları Phoenix sisteminin katı besiyerine pasaj yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Direkt Phoenix yöntemi gram negatif basil kaynaklı bakteriyemilerde bakterilerin tanımlanmasını ve antibiyotik duyarlılıklarının raporlanma süresini en az 18-24 saat kısaltmıştır. Bu sonuç, kan kültür şişesinden yapılan direkt yöntemin hem hastaların erken klinik yarar sağlayabilmesi hem de hastane maliyetlerini azaltması açısından yararlı olabileceğini göstermektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Karaali R, Tabak F. Sepsis patogenezi. *Klinik Gelişim Dergisi* 2009;22:71-6.
2. Karlowsky JA, Jones ME, Draghi DC, Thornsberry C, Sahn DF, Volturo GA. Prevalance and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in the United States in 2002. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2004;10:3-7.
3. 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.
4. Doğanay M, Alp Meşe E. Sepsis, pp. 877-97. In: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi kitabı*. 2008, 3. baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
5. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, 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.
6. Beekmann SE, Diekema DJ, Chapin KC, Doern GV. Effects of rapid detection of bloodstream infections on length of hospitalization and hospital charges. *J Clin Microbiol* 2003;41(7):3119-25.
7. Karakoç AE. Güncel rehberler ışığında sepsis, klasik ve hızlı tanı yöntemler, ulusal hemokültür rehberi. *ANKEM Derg* 2014;28(Ek 2):46-51.
8. Ntusi N, Aubin L, Oliver S, Whitelaw A, Mendelson M. Guideline for the optimal use of blood cultures. *S Afr Med J* 2010;100(12):839-43.
9. Chiarini A, Palmeri A, Amato T, Immordino R, Distefano S, Giammanco A. Detection of bacterial and yeast species with the Bactec 9120 automated system with routine use of aerobic, anaerobic, and fungal media. *J Clin Microbiol* 2008;46(12):4029-33.
10. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 5.0, 2015.
11. Trenholme GM, Kaplan RL, Karakusis PH, Stine T, Fuhrer J, Landau W, et al. Clinical impact of rapid identification and susceptibility testing of bacterial blood culture isolates. *J Clin Microbiol* 1989;27(6):1342-5.
12. Beuving J, van der Donk CF, Linszen CF, Wolffs PF, Verbon A. Evaluation of direct inoculation of the BD PHOENIX system from positive BACTEC blood cultures for both gram-positive cocci and gram-negative rods. *BMC Microbiol* 2011;11:156.
13. Waites KB, Brookings ES, Moser SA, Zimmer BL. Direct bacterial identification from positive BacT/Alert blood cultures using MicroScan overnight and rapid panels. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998;32(1):21-6.
14. Maelegheer K, Nulens E. Same-day identification and antibiotic susceptibility testing on positive blood cultures: a simple and inexpensive procedure. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017;36(4):681-7.
15. Yonetani S, Okazaki M, Araki K, Makino H, Fukugawa Y, Okuyama T, et al. Direct inoculation method using BacT/ALERT 3D and BD Phoenix System allows rapid and accurate identification and susceptibility testing for both gram-positive cocci and gram-negative rods in aerobic blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;73(2):129-34.
16. Hazelton B, Thomas LJ, Olma T, Kok J, O'Sullivan M, Chen SC, et al. Rapid and accurate direct antibiotic susceptibility testing of blood culture broths using MALDI Sepsityper combined with the BD Phoenix automated system. *J Med Microbiol* 2014;63(Pt 12):1590-4.
17. Lee JE, Jo SJ, Park KG, Suk HS, Ha SI, Shin JS, et al. Evaluation of modified saponin preparation method for the direct identification and antimicrobial susceptibility testing from positive blood culture. *J Microbiol Methods* 2018;154:118-23.
18. Buchan BW, Riebe KM, Ledebauer NA. Comparison of the MALDI Biotyper system using Sepsityper specimen processing to routine microbiological methods for identification of bacteria from positive blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 2012;50(2):346-52.

19. Moussaoui W, Jaulhac B, Hoffmann AM, Ludes B, Kostrzewa M, Riegel P, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry identifies 90% of bacteria directly from blood culture vials. *Clin Microbiol Infect* 2010;16(11):1631-8.
20. Stevenson LG, Drake SK, Murray PR. Rapid identification of bacteria in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol* 2010;48(2):444-7.
21. Ling TK, Tam PC, Liu ZK, Cheng AF. Evaluation of VITEK 2 rapid identification and susceptibility testing system against gram-negative clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2001;39(8):2964-6.
22. Lemos TC, Cogo LL, Maestri AC, Hadad M, Nogueira KDS. Is it possible to perform bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing with a positive blood culture bottle for quick diagnosis of blood stream infections? *Rev Soc Bras Med Trop* 2018;51(2):215-8.
23. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RC. *Manual of clinical microbiology*. 2003, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology Washington, DC.
24. Barenfanger J, Drake C, Kacich G. Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. *J Clin Microbiol* 1999;37(5):1415-8.
25. Doern GV, Vautour R, Gaudet RM, Levy B. Clinical impact of rapid in vitro susceptibility testing and bacterial identification. *J Clin Microbiol* 1994; 32(7):1757-62.
26. Munoz-Dávila MJ, Yagüe G, Albert M, García-Lucas T. Comparative evaluation of Vitek 2 identification and susceptibility testing of gram-negative rods directly and isolated from BacT/ALERT-positive blood culture bottles. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31(5):663-9.
27. Florio W, Barnini S, Morici P, Lupetti A. Direct inoculation of positive blood cultures using the Phoenix system for antimicrobial susceptibility testing of both gram-positive and gram-negative bacteria. *J Med Microbiol* 2015;64 (Pt 5):582-5.
28. Barman P, Chopra S, Thukral T. Direct testing by VITEK<sup>®</sup> 2: A dependable method to reduce turnaround time in gram-negative bloodstream infections. *J Lab Physicians* 2018;10(3):260-4.