

BÖLÜM 2

SEPSİS TANISINDAKİ YENİLİKLER

Yusuf Emre ÖZDEMİR¹

GİRİŞ

Sepsis, genellikle birincil bir bakteriyel enfeksiyondan veya daha az sıklıkla bir fungal ve/veya viral enfeksiyondan kaynaklanan ciddi ve yaşamı tehdit eden bir klinik durumdur. Hastanede yatırılan hastalardaki prevalansı yaklaşık %6'dır ve önümüzdeki 30 yıl içerisinde sepsis insidansının %12'ye çıkması beklenmektedir. Sepsise bağlı mortalite ise %15-20 civarındadır. Oldukça ölümcül seyreden bu klinik durumun prognozunda tanının erken konulması ve uygun tedavinin başlanması hayati öneme sahiptir (1,2). Uzun zamandır standart kan kültürü yöntemleri, sepsis tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak; duyarlılığının düşük olması, patojen mikroorganizmayı tanımlama süresinin uzun olması, fazla numune ihtiyacı (en az 40 ml kan), sık tekrarlanma ihtiyacı ve pre-analitik değişkenlerin varlığı bu yöntemin başarısını düşüren önemli kısıtlılıklardır (3). Bu nedenle sepsis tanısına yönelik yeni belirteç ve yöntemleri ortaya çıkarmak için çalışmalar tüm hızıyla devam etmektedir. Bununla beraber güncel sepsis rehberlerine henüz birkaç yeni biyobelirteç tespiti dışında yeni yöntemler dahil edilmemiştir. Bu gelişmeler molüküler testler, biyobelirteçler, point-of-care testler, mikroakışkan sistemler ve yapay zeka/makine öğrenmesi olarak sınıflandırılabilir (4).

MOLEKÜLER YÖNTEMLER

MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight)

MALDI-TOF kütle spektrometresi (MS), mikroorganizmaların benzersiz protein profilini tanımlamaya dayalı olarak son yıllarda geliştirilen yaygın kullanılan bir yöntemdir. Özellikle bakterilerin ve mantarların tanımlanmasında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onayı ile kullanılmaktadır. Moleküllerin ultraviyole ışınlarla buharlaştırılıp iyonize hale getirilmesi ve bu

¹ Uzm. Dr., Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, dryusufozdemir@gmail.com

moleküllerin, saptayıcıya ulaştığı sürelerin tespit edilmesi prensibine dayanır. Mikroorganizmaları tanımlamada %95-98 oranında başarı sağlamaktadır. Ancak; *Escherichia coli* ile *Shigella* türleri ve de *Acinetobacter baumannii* ile *Acinetobacter calcoaceticus* ayırımını düzgün olarak gerçekleştirememektedir. Tanımlama, sadece kültürde üretilen mikroorganizmalar üzerinden yapılabilmektedir. Geleneksel yöntemlere göre etkenin 6-12 saat önce tanımlanabilmesine olanak sağlar ve maliyet etkindir. Bununla beraber cihaz teminindeki yüksek maliyetler, terminolojinin sürekli olarak güncellenme gerekliliği ve de etkenin kültürde üretilme zorunluluğu dezavantajlarıdır. Antimikrobiyal direncin tespitinde ise henüz standardize edilmiş ve onaylanmış bir kullanım alanı bulunmamaktadır. Bununla beraber; antimikrobiyal direncin enzimatik mekanizmalarıyla ilişkili spektral zirveleri belirlemeye yönelik araştırmalar devam etmektedir (5-6). Zhong ve arkadaşlarının sistematik derlemesinde, MALDI-TOF MS yönteminin *Enterobacteriales*'de karbapenemaz direncini genotipik olarak saptamada mükemmel tanısal doğruluğa sahip olduğu bildirilmiştir (7).

Direkt MALDI-TOF MS

Kültürde üreme sonuçlarını beklemeden, daha hızlı sonuçlar elde edebilmek için geliştirilmiş bir yöntemdir. Pozitif kan kültürü sıvıları üzerinden doğrudan MALDI-TOF MS ile tanımlama prensibine dayanır. Ancak, insan hücrel proteinlerinin varlığı nedeniyle duyarlılığı düşüktür. Ayrıca polimikrobiyal enfeksiyonlarda da düşük performans sahiptir. Henüz FDA onayı bulunmamaktadır. Bununla beraber; tanısal duyarlılığı arttırabilmek için konakçıya ait proteinleri ortadan kaldıran kitler geliştirilmiştir. Bu kitler ile Gram negatif bakterilerin tanımlamasında %66-100 oranında başarı sağlanmışken, Gram pozitif bakteriler ve mayaların tanımlanmasında %17-100 oranında başarı sağlanabilmiştir (5,8,9).

Kısa inkübasyonlu MALDI-TOF MS (SI-MALDI)

Tanısal duyarlılığı arttırmak ve daha hızlı tanı koyabilmek için mikroorganizma kolonilerinin 3-6 saat içerisinde izole edilip tanımlandığı bir yöntemdir. Etken tanımlamadaki duyarlılığı %73-100'dür. Polimikrobiyal enfeksiyonları tanımlamada yetersizdir. FDA onayı ise yoktur (5,10).

PCR/MALDI-TOF MS

Kütle spektrometrisi tespitinden önce PCR içeren yeni sistemlerle bakteri ve maya türlerini tanımlama süresi 6-8 saate kadar düşürülmüştür. Kan kültürlerinde geleneksel yöntemler ile üretilebilmesi zor olan mikroorganizmaları (*Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Rickettsia typhi*, *Nocardia spp.*) tanımlayabilir. Ayrıca antimikrobiyal tedavi alan kişilerde alınan kan kültür

örneklerinde etken mikroorganizmayı saptamada geleneksel yöntemlere göre oldukça başarılı bulunmuştur (%83 vs. %42). Ancak FDA onayı yoktur (6,11,12).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR yöntemleri, 1980'lerin sonlarından beri virüslerin tespitinde kullanılmaktadır. RNA virüslerinin tespitinde basit, maliyet etkin ve yüksek duyarlılığa sahip revers transkriptaz (RT) işlemine sahip RT-PCR kullanılmaktadır. Bununla beraber cansız virüs parçacıklarını ayıramaması ve kontaminasyona bağlı yüksek yanlış pozitiflik oranları ciddi kısıtlılıklarıdır (13). Amplifikasyon aşaması sırasında floresans emisyonunu ölçerek dizilerin miktarının belirlenmesini kolaylaştıran "gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu" (RT-qPCR) ise yüksek hassasiyet ve düşük algılama limiti ile virüs tespitinde altın standart haline gelmiştir (14). Kan dolaşımı enfeksiyonlarına bağlı septiseminin erken tanısında ise tam kan örneğinden aynı anda birçok mikroorganizmayı tanımlayabilen multipleks PCR yöntemleri farklı modern tekniklerle entegre edilerek geliştirilmiş ve pratik hayatta kullanılmaya başlanmıştır

Iridica/Plex ID (Abbott Molecular, Des Plaines, IL)

780 bakteri ve *Candida* türünü 6 saat içerisinde tanımlayabilen bu test, tam kan (5 ml) örneğinden doğrudan etken tanımlayabilen geniş tabanlı bir testtir. Ayrıca, dört antimikrobiyal direnç genini de (*mecA*, *vanA*, *vanB* ve *blaKPC*) tespit edebilmektedir. Multipleks PCR yöntemi ile çoğaltılan patojen genomlarının elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi (ESI-MS) ile tanımlanması prensibiyle çalışır (15). Klinik çalışmalarda duyarlılığı %45-83, özgüllüğü ise %69-94 arasında bulunmuştur (15,16). Bu geniş tabanlı yarı kantitatif teknolojinin, tam kan numunelerinde çok çeşitli patojenleri tespit edebilmesi umut vaad etmekte, ancak tespit edilen sınırlı sayıda direnç belirteci göz önüne alındığında, antibiyotik yönetimi üzerindeki potansiyel etkisi düşüktür. FDA tarafından henüz onaylanmayan bu testin, "Conformité Européene (CE)" sertifikası mevcuttur ve Avrupada kullanımı onaylanmıştır (17).

SeptiFast (Roche Diagnostics, Risch-Rotkreuz, Switzerland)

16'dan fazla bakteri, 5 *Candida* türü ve *Aspergillus fumigatus*'u 1,5 ml'lik bir tam kan örneği kullanarak tanımlayabilmektedir. 8 testlik bir kitin sonuç verme süresi 6 saat'dir. Bununla beraber, antibiyotik direnç genlerinden sadece *mecA*'yı saptayabilir. SeptiFast testinde, ilk olarak multipleks gerçek zamanlı PCR testi, sonrasında ise yüksek çözünürlüklü DNA erime analizi yöntemi kullanılmaktadır. Primerler ise, bakteriler için 16S ve 23S genleri arasındaki ve mantarlar için 18S ve 5.8S genleri arasındaki dahili kopyalanmış ayırıcı (ITS) bölgeleri hedefler (15).

41 çalışmanın değerlendirildiği bir meta analizde SeptiFast testinin duyarlılığı %68, özgüllüğü %86 olarak bulunmuştur (18). 8438 testin değerlendirildiği başka bir meta-analizde ise duyarlılık %75, özgüllük %92 olarak bildirilmiştir (19). Ayrıca, SeptiFast testinin polimikrobiyal enfeksiyonları kan kültüründen daha yüksek oranlarda tespit ettiği bildirilmiştir. SeptiFast'in CE onayı vardır ancak henüz FDA onayı yoktur. Özetle, sepsise neden olabilecek en olası 25 patojeni kapsayan, geniş tabanlı ve polimikrobiyal enfeksiyonları tanımlayabilen bir testtir. Ancak, yenidoğan sepsisi ile ilişkili olan patojenlerin bazıları testin içeriğine dahil edilmemiştir (15).

SepsiTest (Molzyme, Bremen, Germany)

1 ml'lik bir tam kan örneğinden 8 ila 10 saat içinde 303 bakteri ve 40 mantarı tanımlayabilmektedir. Şu an için direnç tespitinde kullanılmamaktadır. SepsiTest testinde, diğer moleküler testlerden farklı olarak tanısal duyarlılığı artırmak için seçici lizis ve insan DNA degradasyonunu sağlayan daha detaylı bir numune hazırlama adımı uygulanır. Sonrasında ise multipleks PCR'ı takiben Sanger yöntemi ile sekanslama gerçekleştirilir. Bu yöntemin, FDA onayı bulunmamakla beraber CE onayı vardır. 4 saat içerisinde bakteriyemi veya fungemi varlığı rapor edilir, tür tespiti için ise ek olarak 4-6 saate daha ihtiyaç vardır (15,20). Klinik çalışmalarda oldukça değişken aralıkta duyarlılık oranları (%11-%87) bildirilmiştir. Bununla beraber, %85 ila %96 arasında yüksek bir özgüllüğe sahiptir (21). SepsiTest, az miktarda kan (1 ml) gerektirdiği için hem yetişkin hem de pediatrik hastalar için uygun olan geniş tabanlı bir testtir. Ancak birden fazla büyük sistem gereksinimi hem kontaminasyon riskini hem de başlangıç maliyetini arttırmaktadır. Gelecekte yeni nesil dizileme teknolojilerinin kullanılmasıyla hem daha hızlı sonuçlar elde edilebilir hem de antibiyotik direncinin saptanabileceği düşünülmektedir (15).

Oxford nanopore sekanslama (MinION/MinION Mk1C)

Taşınabilir, USB ile çalışan eş zamanlı bir DNA/RNA sekanslama cihazıdır. MinION platformu; küçük boyutlu olması, hızlı geri dönüş süresine sahip olması ve düşük maliyeti nedeniyle diğer yeni nesil dizileme teknolojilerine göre oldukça avantajlıdır. 16S hızlı amplikon sekanslama kiti kullanılarak patojenlerin 4 saatte tanımlanmasını sağlar. DNA dizilemesini 1. ve 2. nesil sekanslama yöntemlerinden farklı olarak tek molekül düzeyinde gerçekleştirdiği için, klinik örneklerde mikrobiyal çeşitliliğin saptanabilmesine olanak sağlar. Viral patojenleri 40 dk içerisinde %100 duyarlılık ve özgüllükle tanımlayabilmektedir. Bakteriler için ise idrar ve dışkı örneklerinde uygulanabilirken, henüz tam kan tahlili üzerindeki validasyonu tamamlanmamıştır (22).

Patojen DNA parmak izlerinde U-dHRM ve yapay zeka

Evrensel dijital yüksek çözünürlüklü eriyik (U-dHRM) platformu, tam kan numuneleriyle kullanılan geniş tabanlı bir mikrobiyal tanımlama teknolojisidir. Şu anda tek organizma ve tek genom duyarlılığı ile yenidoğan sepsisi ile ilişkili 37 bakteriyel patojeni %99,9 doğrulukla saptayabilir ve 1 ml tam kan kullanarak 4 saatte polimikrobiyal enfeksiyonları çözebilir. Tamamen kantitatif bir yöntem kullanıldığı için yalancı negatif ve pozitif sonuçların en aza indirildiği güvenilir bir tekniktir. Bu teknoloji henüz ticari olarak kullanılmamakta olup güvenilirliğini değerlendirmeye yönelik çalışmalar devam etmektedir. Ayrıca, U-dHRM testinde prob kullanılmadan dijital PCR ile değerlendirme yapılması, tek bir numunede sepsise neden olan bütün patojenlerin tespit edilebilmesine olanak sağlamaktadır (15,23).

SeptiCyte Lab (Immunexpress Inc., Seattle, WA)

SeptiCyte Lab testi, ters transkripsiyon kantitatif PCR (RT-qPCR) tekniğini kullanarak insan inflamatuvar belirteçlerini spesifik olarak hedefleyen ilk transkriptomik yöntemdir. 2,5 ml tam kan kullanılarak 4 ila 6 saat içerisinde sonuçlar elde edilmektedir. Bu test ile doğal bağışıklıkta yer alan 4 RNA biyobelirtecinin (LAMP1, PLAC8, PLA2G7, CEACAM4) düzeyleri tespit edilmektedir. ABD'de yoğun bakım ünitesindeki ilk günde sepsis ile sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun (SIRS) ayırt edilmesinde kullanımına FDA tarafından izin verilmiştir. Farklı yaş gruplarının değerlendirildiği klinik çalışmalarda SeptiCyte Lab testinin sepsis ile SIRS ayırımında mükemmel bir performans (Alıcı İşletim Karakteristiği Analizinde Eğri Altında Kalan Alan "AUROC" >0,90) gösterdiği bildirilmiştir (24). RT-qPCR platformunun optimizasyonu ile testin geri dönüş süresini 1 saate düşüren taşınabilir bir cihaz olan SeptiCyte rapid piyasaya sürülmüştür. Bununla beraber, bu yöntem ile patojen mikroorganizmaya yönelik herhangi bir tanımlama yapılamamaktadır. Gelecekte diğer patojen tespitini sağlayan yöntemlerle kombine kullanıldığında antibiyotik yönetimi üzerine önemli faydalarının olacağı düşünülmektedir (25).

Entegre kapsamlı damlacık dijital tespiti (IC 3D) (Velox Biosystems, Irvine, CA)

Damlacık dijital algılama teknolojisi az miktardaki tam kandan 1-4 saat içerisinde her bir bakteri türünü seçici olarak tespit etmektedir. Tek adımlı, kültür ve amplifikasyon gerektirmeyen IC 3D yöntemi, tek hücre hassasiyetiyle kantitatif bakteri tespiti sağlar. Ayrıca, ek problemler kullanarak antibiyotik direnç belirteçlerini saptamak da mümkündür. Mevcut sistem tasarımı, analiz başına yalnızca bir bakteri türünü (örn. *E. coli*) tespit etme kabiliyeti ile sınırlı iken için çoklu

dalga boyu algılama sistemi geliştirilerek çoklu patojenlerin tanımlanabileceği düşünülmektedir (26).

Karius Plazma Testi (Karius Inc, ABD)

Kolonize veya invaze mikroorganizmalardan salınan dolaşımdaki mikrobiyal hücresiz DNA'nın (mcfDNA) shotgun metagenomik sekanslama yöntemi ile tespit edilmesi ve yapay zeka ile değerlendirilmesi prensibine dayanır. 5 ml tam kan numunesinden 24-48 saat içerisinde bakteri, DNA virüsleri, mantarlar ve parazitlerin bulunduğu 1250 patojeni kantitatif olarak saptayabilmektedir (27). Klinik çalışmalarda duyarlılığı %70-93, özgüllüğü %63-88 arasında bulunmuştur (28). Sepsis şüphesi olan hastalarda ise kan kültürü sonuçları ile korelasyonu %97'dir (27). Ayrıca antibiyoterapi altında patojen tanımlamada kan kültürü yöntemine göre belirgin üstünlük göstermiştir (%20'ye karşın %48). Bu sayede metastatik enfeksiyonların erken farkedilmesine olanak sağlamaktadır. Bununla beraber başlangıç sermaye maliyeti fazladır. Direnç tespiti ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (27,29).

InSep™/ IMX-BVN-2 (Inflammatix, Bulingame, CA)

Host Dx TM testin (IMX-BVN-1) yapay zeka ile geliştirilmesi ile tasarlanmıştır (30). Hedeflenen konakçı mRNA'ların kantitatif ters transkripsiyon döngü aracılı izotermal amplifikasyon yöntemi ile hızlı ve kantitatif olarak saptanması prensibine dayanır. Akut enfeksiyon belirteci olan 11 mRNA (Sepsis MetaScore), bakteriyel/viral enfeksiyon ayrımı için 7 mRNA (Bakteriyel/Viral MetaScore) ve 30 günlük mortalite belirteci için 11 mRNA (Stanford Mortalite Skoru) olmak üzere toplamda 29 mRNA belirteci değerlendirilir. 2,5 ml tam kan örneğinden 30 dk içerisinde sonuç alınabilir (31). Klinik çalışmalarda farklı modellemelerde oldukça yüksek oranda başarı oranı tespit edilmiştir (AUROC=0.85-0.95). Bakteriyel enfeksiyonları ayırt etmede %98 duyarlılık, %94 özgüllüğe; viral enfeksiyonları ayırt etmede %96 duyarlılık, %93 özgüllüğe sahiptir (32).

BİYOBELİRTEÇLER

Sepsis biyobelirteçlerinin hastalığın tanısı, tedavisi ve prognozunu tahmin etmede oldukça önemli rolü vardır. Yeni biyobelirteçlerin tespitine yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir. Günümüzde sepsis için tanımlanmış 250'den fazla biyobelirteç vardır ve bunların 80'i son 10 yıl içerisinde keşfedilmiştir. Son dekatta tanımlanan bu biyobelirteçlerin çoğu genel inflamatuvar reaksiyonlar ile ilişkilidir. Sepsis patofizyolojisinde spesifik olarak bir role sahip olan sadece birkaç biyobelirteç

bulunmuştur (örn. presepsin, lipopolisakkarid bağlayıcı protein, permeabilite arttırıcı protein, trombomodulin ve anti-endotoksin çekirdek antikorları). Bununla beraber sepsis biyobelirteçleri; doğal immün yanıt belirteçleri, sitokin/kemokin belirteçleri, reseptör belirteçleri, mikrodolaşımla ilişkili belirteçler ve organ disfonksiyonu belirteçleri olmak üzere 5 gruba ayrılır. Üzerinde en çok çalışma yapılan biyobelirteçler ise interlökin-6, presepsin ve nötrofil CD64 (nCD64)'tür (33).

Kalprotektin

Kalsiyum bağlayıcı protein olan “kalprotektin”, bakterilere ve endotoksinlere yanıt olarak saatler içerisinde hızlıca nötrofillerden salınan bir proteindir. Bakteriyele ile viral pnömoni ayırımında ve de sepsis tanısında oldukça başarılı sonuçlar (prokalsitoninden üstün) elde edilmiştir. Aynı zamanda mortalite prediktörü olarak da kullanılabilir (34). 820 hastanın değerlendirildiği bir meta-analizde ise sepsis tanısındaki duyarlılığı %75, özgüllüğü %85 olarak bildirilmiştir (35).

İnterlökin-6 (IL-6)

Hem anti-inflamatuvar hem de pro-inflamatuvar özelliği olan bir sitokindir. İnflamasyon durumlarında klinik bulgu gelişmeden yükselir (prokalsitoninden daha erken). 2016 yılında 2680 hastanın değerlendirildiği bir meta-analizde sepsis tanısındaki duyarlılığı %68, özgüllüğü %73 olarak prokalsitonin ile benzer bulunmuştur (36). 2019 yılında 4192 hastanın değerlendirildiği başka bir meta-analizde ise sepsisteki duyarlılığı %66, özgüllüğü %74 olarak bildirilmiştir. Bu meta-analizde ek olarak çalışmalar arasında ciddi heterojenite varlığı olduğu bu nedenle IL-6'nın sepsis tanısındaki doğru yerinin değerlendirilebilmesi için daha titiz çalışmalar yapılması gerektiği belirtilmiştir (37).

Çözünabilir Ürokinaz Tip Plazminojen Aktivitör Reseptörü (suPAR)

Kanda ve vücut sıvılarında yaygın olarak bulunan ve immün sistem aktivitesi ile doğrudan ilişkili olan bir membran reseptörüdür. Acil serviste kolayca ve hızlıca ölçülebilmektedir. 6906 hastanın değerlendirildiği bir meta-analizde sepsis tanısındaki duyarlılığı %76, özgüllüğü %78 olarak bulunmuş (prokalsitonin ile benzer) ve sepsis ile sistemik inflamatuvar yanıt sendromunu ayırt etmede faydalı ve de mortalite için bir prediktör olduğu tespit edilmiştir (38). Başka bir meta-analizde de suPAR seviyelerinin mortalite ile doğrudan bir ilişkisinin olduğu gösterilmiş ve gelecekte kronik hastalıkların önlenmesi ve erken ölüm gibi halk sağlığı sorunlarıyla mücadele etmede önemli bir yerinin olabileceği belirtilmiştir (39).

Heparin Bağlayıcı Protein (HBP)

Azurocidin veya CAP37 olarak da bilinen HBP, nötrofillerin azurofilik granüllerinde depolanan bir proteindir. T lenfositlere ve monositlere karşı proinflamatuvar kemotaktik etkilere sahiptir. 2019 yılında 1884 hastanın değerlendirildiği bir meta-analizde sepsis tanısındaki duyarlılığı ve özgüllüğü %80 olarak bildirilmiştir (40). 2021 yılında 3868 hastanın değerlendirildiği başka bir meta-analizde ise duyarlılığı %85, özgüllüğü %91 olarak belirtilmiş ve sepsis tanısında prokalsitonin ile C-reaktif proteine (CRP) üstün olduğu tespit edilmiştir. Bu analizde ayrıca HBP seviyelerinin sepsis teşhisinden en az 24 saat önce önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (41).

Presepsin (P-SEP)

Monositler ve makrofajlar gibi bağışıklık hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen bir glikoprotein olan CD14'ün 13 kDa çözümlenir bir parçasıdır. Lipopolisakkaridler için bir reseptör görevi görür. Prokalsitonin ve IL-6 seviyelerinden daha önce yükselir. Acil serviste kolayca 20 dk içinde ölçülebilir. Sepsis anısındaki sınır değeri ise 400–600 pg/mL'dir. Ayrıca tedaviye yanıt parametresi olarak da kullanılabilir. 3012 hastanın değerlendirildiği bir meta-analizde sepsis tanısındaki duyarlılığı %84, özgüllüğü %73 olarak prokalsitonin ile benzer bulunmuştur. Bununla beraber akut böbrek yetmezliğinde testin özgüllüğü %60'lara kadar düşmektedir (42). Çocuklarda sepsis tanısındaki duyarlılığı %94 (CRP ve prokalsitoninden yüksek), özgüllüğü ise %71'dir (CRP ve prokalsitoninden düşük) (43).

Nötrofil CD64 (nCD64)

Bakteriyel enfeksiyon sırasında salınan sitokinlere yanıt olarak nötrofiller, monositler ve makrofajlar tarafından eksprese edilen IgG bağlayıcı bir reseptördür. Flow sitometri yöntemi ile saptanabilmesi klinik kullanımda ciddi bir dezavantajdır. Bununla beraber son yıllarda mikroakışkan teknolojilerin geliştirilmesiyle hasta yanında 50 dakikadan kısa süre içerisinde sonuç verebilen teknikler geliştirilmiştir. 2019 yılında, 2471 hastanın değerlendirildiği meta-analizde sepsis tanısındaki duyarlılığı %87, özgüllüğü %89 olarak tespit edilmiştir (44). 2021 yılında 9842 hastanın değerlendirildiği başka bir meta analizde ise duyarlılığı ve özgüllüğü %88 olarak bildirilmiş ve prokalsitoninden yüksek tanısal performans ortaya koyduğu gösterilmiştir (45).

Miyeloid Hücrelerde Eksprese Edilen Çözünür Tetikleyici Reseptörler (sTREM-1)

Bakteriyel lipopolisakkaridler tarafından uyarılan polimorfonükleer hücrelerin ve olgun monositlerin yüzeyinde bulunur. Interlökin-8, tümör nekroz faktör (TNF) alfa ve monosit kemotaktik protein-1'in salgılanmasını tetikler. 2418 hastanın

değerlendirildiği meta-analizde sepsis tanısındaki duyarlılığı %82, özgüllüğü %81 olarak bildirilmiş ve prokalsitonin ile benzer tanısal performans gösterdiği saptanmıştır (46).

Pro-Adrenomedullin (ProADM)

ProADM, vasküler endotel hücreleri ve düz kas hücreleri tarafından üretilen vazoaaktif bir madde olan adrenomedullinden türetilen 48 amino asitli bir peptiddir. Vasküler hasarın bir belirticidir ve hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği ve miyokard infarktüsü başta olmak üzere birçok vasküler tutulum gösteren hastalıklarda klinik şiddet ile ilişkili bulunmuştur. Bu nedenle ProADM'nin yüksek mortalite riskinin ve organ disfonksiyonu ciddiyetinin erken bir öngörücüsü ve klinik progresyon biyobelirteci olarak kullanılması önerilmiştir (47). 2038 hastanın değerlendirildiği bir meta-analizde de sepsis tanısında 1-1,5 nmol/L sınır değeri ile %83 duyarlılığa, %90 özgüllüğe sahip olduğu belirtilmiştir. Bununla beraber küçük çocuklarda bakteriyel enfeksiyon tanısında düşük performansı vardır. Acil servis şartlarında 30 dakika içerisinde ölçülebildiği teknikler geliştirilmiştir (48).

MikroRNA (miRNA)

Küçük, kodlayıcı olmayan RNA'ların bir sınıfı olan miRNA'lar, konağın enfeksiyonlara karşı doğal ve edinsel immün yanıtında yer alan proteinleri düzenleyerek, anahtar bir rol oynarlar. miRNA genlerindeki polimorfizimin, kişilerde enfeksiyonlara karşı duyarlılığı değiştirdiği düşünülmektedir. 2337 hastanın değerlendirildiği bir meta-analizde, sepsis tanısındaki duyarlılığı %80, özgüllüğü %85 olarak prokalsitonin ile benzer bulunmuştur. Sepsis tanısındaki en iyi tanısal performansın ise miR-233 ile olduğu bildirilmiştir (49). Ayrıca, sepsis dışında hematolojik ve onkolojik kanserlerde, ankilozan spondilit, hepatit B ve C virüs enfeksiyonlarında, iskemik serebrovasküler olaylarda, alkolik olmayan karaciğer yağlanması gibi birçok durumda da tanısal amaçlı kullanılabilir (50).

SONUÇ

Sepsis, hastanede yatan hastalardaki en önemli mortalite nedenlerinden biridir. Oldukça ölümcül seyreden bu klinik durumun prognozunda tanının erken konulması ve uygun tedavinin başlanması hayati öneme sahiptir. Bu nedenle sepsis tanısına yönelik uzun yıllardır süregelen çalışmalar tüm hızıyla devam etmektedir. Biyoinformatik sistemin genişlemesi, nanopartiküllerin tanısal tetkiklere entegre edilmesi, mikroakışkan sıvıların optimize edilmesi ve yeni nesil sekanslama yöntemlerinin geliştirilmesiyle yarım saat içerisinde sepsis

tanısını %95'in üzerinde duyarlılıkla tespit edebilen ve 4-6 saat içerisinde patojen mikroorganizmayı saptayabilen umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Gelecekte, bu testlerin tanısal duyarlılıklarının daha da artırılması ve maliyetlerin düşürülmesine yönelik yeni yöntemlerin geliştirilmesi bu testlerin daha yaygın olarak kullanılmasına olanak sağlayacaktır.

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(8):801-810. doi:10.1001/jama.2016.0287
2. Rhee C, Dantes R, Epstein L, et al. Incidence and Trends of Sepsis in US Hospitals Using Clinical vs Claims Data, 2009-2014. *JAMA*. 2017;318(13):1241-1249. doi:10.1001/jama.2017.13836
3. Da Rin G, Zoppelletto M, Lippi G. Integration of Diagnostic Microbiology in a Model of Total Laboratory Automation. *Lab Med*. 2016;47(1):73-82. doi:10.1093/labmed/lmw007
4. Egi M, Ogura H, Yatabe T, et al. The Japanese Clinical Practice Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2020 (J-SSCG 2020). *J Intensive Care*. 2021;9(1):53. Published 2021 Aug 25. doi:10.1186/s40560-021-00555-7
5. Briggs N, Campbell S, Gupta S. Advances in rapid diagnostics for bloodstream infections. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2021;99(1):115219. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2020.115219
6. Duncan CF, Youngstein T, Kirrane MD, et al. Diagnostic Challenges in Sepsis. *Curr Infect Dis Rep*. 2021;23(12):22. doi:10.1007/s11908-021-00765-y
7. Zhong H, Wu ML, Feng WJ, et al. Accuracy and applicability of different phenotypic methods for carbapenemase detection in Enterobacteriaceae: A systematic review and meta-analysis. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020;21:138-147. doi:10.1016/j.jgar.2019.10.010
8. Huang YL, Sun QL, Li JP, et al. Evaluation of an in-house MALDI-TOF MS rapid diagnostic method for direct identification of micro-organisms from blood cultures. *J Med Microbiol*. 2019;68(1):41-47. doi:10.1099/jmm.0.000866
9. Wu S, Xu J, Qiu C, et al. Direct antimicrobial susceptibility tests of bacteria and yeasts from positive blood cultures by using serum separator gel tubes and MALDI-TOF MS. *J Microbiol Methods*. 2019;157:16-20. doi:10.1016/j.mimet.2018.12.011
10. Cherkaoui A, Renzi G, Azam N, et al. Rapid identification by MALDI-TOF/MS and antimicrobial disk diffusion susceptibility testing for positive blood cultures after a short incubation on the WASPLab. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39(6):1063-1070. doi:10.1007/s10096-020-03817-8
11. Makristathis A, Harrison N, Ratzinger F, et al. Substantial diagnostic impact of blood culture independent molecular methods in bloodstream infections: Superior performance of PCR/ESI-MS. *Sci Rep*. 2018;8(1):16024. Published 2018 Oct 30. doi:10.1038/s41598-018-34298-7
12. Mustafa MI, Al-Marzooq F, How SH, et al. The use of multiplex real-time PCR improves the detection of the bacterial etiology of community acquired pneumonia. *Trop Biomed*. 2011;28(3):531-544.
13. Choudhary ML, Anand SP, Tikhe SA, et al. Comparison of the conventional multiplex RT-PCR, real time RT-PCR and Luminex xTAG® RVP fast assay for the detection of respiratory viruses. *J Med Virol*. 2016;88(1):51-57. doi:10.1002/jmv.24299
14. Navarro E, Serrano-Heras G, Castaño MJ, et al. Real-time PCR detection chemistry. *Clin Chim Acta*. 2015;439:231-250. doi:10.1016/j.cca.2014.10.017
15. Sinha M, Jupe J, Mack H, et al. Emerging Technologies for Molecular Diagnosis of Sepsis. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31(2):e00089-17. Published 2018 Feb 28. doi:10.1128/CMR.00089-17
16. Desmet S, Maertens J, Bueselinck K, et al. Broad-Range PCR Coupled with Electrospray Ionization Time of Flight Mass Spectrometry for Detection of Bacteremia and Fungemia in Patients with Neutropenic Fever. *J Clin Microbiol*. 2016;54(10):2513-2520. doi:10.1128/JCM.01066-16

17. Opota O, Jatton K, Greub G. Microbial diagnosis of bloodstream infection: towards molecular diagnosis directly from blood. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(4):323-331. doi:10.1016/j.cmi.2015.02.005
18. Dark P, Blackwood B, Gates S, et al. Accuracy of LightCycler(®) SeptiFast for the detection and identification of pathogens in the blood of patients with suspected sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2015;41(1):21-33. doi:10.1007/s00134-014-3553-8
19. Chang SS, Hsieh WH, Liu TS, et al. Multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis – a systemic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2013;8(5):e62323. Published 2013 May 29. doi:10.1371/journal.pone.0062323
20. Horz HP, Scheer S, Vianna ME, Conrads G. New methods for selective isolation of bacterial DNA from human clinical specimens. *Anaerobe.* 2010;16(1):47-53. doi:10.1016/j.anaerobe.2009.04.009
21. Leitner E, Kessler HH, Spindelboeck W, et al. Comparison of two molecular assays with conventional blood culture for diagnosis of sepsis. *J Microbiol Methods.* 2013;92(3):253-255. doi:10.1016/j.mimet.2012.12.012
22. Quick J, Ashton P, Calus S, et al. Rapid draft sequencing and real-time nanopore sequencing in a hospital outbreak of Salmonella. *Genome Biol.* 2015;16:114. Published 2015 May 30. doi:10.1186/s13059-015-0677-2
23. Velez DO, Mack H, Jupe J, et al. Massively parallel digital high resolution melt for rapid and absolutely quantitative sequence profiling. *Sci Rep.* 2017;7:42326. Published 2017 Feb 8. doi:10.1038/srep42326
24. Miller R, Lopansri B, McHugh L, et al. Validation of a novel host response assay to distinguish SIRS and sepsis in critically ill patients. *Crit Care Med* 2015;43:252. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000474833.48035.b5>.
25. Miller RR 3rd, Lopansri BK, Burke JP, et al. Validation of a Host Response Assay, SeptiCyte LAB, for Discriminating Sepsis from Systemic Inflammatory Response Syndrome in the ICU [published correction appears in *Am J Respir Crit Care Med.* 2020 Jul 1;202(1):155]. *Am J Respir Crit Care Med.* 2018;198(7):903-913. doi:10.1164/rccm.201712-2472OC
26. Kang DK, Ali MM, Zhang K, et al. Rapid detection of single bacteria in unprocessed blood using Integrated Comprehensive Droplet Digital Detection. *Nat Commun.* 2014;5:5427. Published 2014 Nov 13. doi:10.1038/ncomms6427
27. Blauwkamp TA, Thair S, Rosen MJ, et al. Analytical and clinical validation of a microbial cell-free DNA sequencing test for infectious disease. *Nat Microbiol.* 2019;4(4):663-674. doi:10.1038/s41564-018-0349-6
28. Han D, Li R, Shi J, Tan P, Zhang R, Li J. Liquid biopsy for infectious diseases: a focus on microbial cell-free DNA sequencing. *Theranostics.* 2020;10(12):5501-5513. Published 2020 Apr 7. doi:10.7150/thno.45554
29. Eichenberger EM, de Vries CR, Ruffin F, et al. Microbial Cell-Free DNA Identifies Etiology of Bloodstream Infections, Persists Longer Than Conventional Blood Cultures, and Its Duration of Detection Is Associated With Metastatic Infection in Patients With Staphylococcus aureus and Gram-Negative Bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2022;74(11):2020-2027. doi:10.1093/cid/ciab742
30. Mayhew MB, Buturovic L, Luethy R, et al. A generalizable 29-mRNA neural-network classifier for acute bacterial and viral infections. *Nat Commun.* 2020;11(1):1177. Published 2020 Mar 4. doi:10.1038/s41467-020-14975-w
31. Atallah J, Mansour MK. Implications of Using Host Response-Based Molecular Diagnostics on the Management of Bacterial and Viral Infections: A Review. *Front Med (Lausanne).* 2022;9:805107. Published 2022 Feb 3. doi:10.3389/fmed.2022.805107
32. Bauer W, Kappert K, Galtung N, et al. A Novel 29-Messenger RNA Host-Response Assay From Whole Blood Accurately Identifies Bacterial and Viral Infections in Patients Presenting to the Emergency Department With Suspected Infections: A Prospective Observational Study. *Crit Care Med.* 2021;49(10):1664-1673. doi:10.1097/CCM.0000000000005119

33. Leong K, Gaglani B, Khanna AK, McCurdy MT. Novel Diagnostics and Therapeutics in Sepsis. *Biomedicines*. 2021;9(3):311. Published 2021 Mar 18. doi:10.3390/biomedicines9030311
34. Larsson A, Tydén J, Johansson J, et al. Calprotectin is superior to procalcitonin as a sepsis marker and predictor of 30-day mortality in intensive care patients. *Scand J Clin Lab Invest*. 2020;80(2):156-161. doi:10.1080/00365513.2019.1703216
35. Gao RY, Jia HM, Han YZ, et al. Calprotectin as a diagnostic marker for sepsis: A meta-analysis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:1045636. Published 2022 Nov 28. doi:10.3389/fcimb.2022.1045636
36. Ma L, Zhang H, Yin YL, et al. Role of interleukin-6 to differentiate sepsis from non-infectious systemic inflammatory response syndrome. *Cytokine*. 2016;88:126-135. doi:10.1016/j.cyt.2016.08.033
37. Molano Franco D, Arevalo-Rodriguez I, Roqué I Figuls M, et al. Plasma interleukin-6 concentration for the diagnosis of sepsis in critically ill adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;4(4):CD011811. Published 2019 Apr 30. doi:10.1002/14651858.CD011811.pub2
38. Huang Q, Xiong H, Yan P, et al. The Diagnostic and Prognostic Value of suPAR in Patients with Sepsis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Shock*. 2020;53(4):416-425. doi:10.1097/SHK.0000000000001434
39. Petersen JEV, Kallemose T, Barton KD, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) as a prognostic marker of mortality in healthy, general and patient populations: protocol for a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2020;10(7):e036125. Published 2020 Jul 19. doi:10.1136/bmjopen-2019-036125
40. Chen M, Yuan J, Yang Z, et al. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2019;31(10):1224-1230. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.10.009
41. Wu YL, Yo CH, Hsu WT, et al. Accuracy of Heparin-Binding Protein in Diagnosing Sepsis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Crit Care Med*. 2021;49(1):e80-e90. doi:10.1097/CCM.0000000000004738
42. Kondo Y, Umemura Y, Hayashida K, et al. Diagnostic value of procalcitonin and presepsin for sepsis in critically ill adult patients: a systematic review and meta-analysis. *J Intensive Care*. 2019;7:22. Published 2019 Apr 15. doi:10.1186/s40560-019-0374-4
43. Yoon SH, Kim EH, Kim HY, et al. Presepsin as a diagnostic marker of sepsis in children and adolescents: a systemic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):760. Published 2019 Aug 30. doi:10.1186/s12879-019-4397-1
44. Yeh CF, Wu CC, Liu SH, et al. Comparison of the accuracy of neutrophil CD64, procalcitonin, and C-reactive protein for sepsis identification: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intensive Care*. 2019;9(1):5. Published 2019 Jan 8. doi:10.1186/s13613-018-0479-2
45. Cong S, Ma T, Di X, et al. Diagnostic value of neutrophil CD64, procalcitonin, and interleukin-6 in sepsis: a meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2021;21(1):384. Published 2021 Apr 26. doi:10.1186/s12879-021-06064-0
46. Chang W, Peng F, Meng SS, et al. Diagnostic value of serum soluble triggering expressed receptor on myeloid cells 1 (sTREM-1) in suspected sepsis: a meta-analysis. *BMC Immunol*. 2020;21(1):2. Published 2020 Jan 13. doi:10.1186/s12865-020-0332-x
47. Koyama T, Kuriyama N, Suzuki Y, et al. Author Correction: Mid-regional pro-adrenomedullin is a novel biomarker for arterial stiffness as the criterion for vascular failure in a cross-sectional study. *Sci Rep*. 2021;11(1):17638. Published 2021 Aug 30. doi:10.1038/s41598-021-96984-3
48. Li P, Wang C, Pang S. The diagnostic accuracy of mid-regional pro-adrenomedullin for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Minerva Anesthesiol*. 2021;87(10):1117-1127. doi:10.23736/S0375-9393.21.15585-3
49. Shen X, Zhang J, Huang Y, et al. Accuracy of circulating microRNAs in diagnosis of sepsis: a systematic review and meta-analysis. *J Intensive Care*. 2020;8(1):84. Published 2020 Nov 2. doi:10.1186/s40560-020-00497-6
50. Zhao J, Wang Q, Zhu R, et al. Circulating Non-coding RNAs as Potential Biomarkers for Ischemic Stroke: A Systematic Review. *J Mol Neurosci*. 2022;72(8):1572-1585. doi:10.1007/s12031-022-01991-2