T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

POZİTİF KAN KÜLTÜRLERİNDE MALDI-TOF TÖNTEMİ KULLANILARAK HIZLI BAKTERİ MAYA İDENTİFİKASYONU

CENNET TUĞÇE BİLGİN

DANIŞMAN
PROF. DR. NEVRİYE GÖNÜLLÜ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2019

Bu çalışma 24.07.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ

Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKMAN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Dr.Öğr.Üyesi Defne GÜMÜŞ
Yeni Yüzyıl Üniversitesi
Tıp Fakültesi

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



Cennet Tuğçe Bilgin

İTHAF

Kızlarım İkra ve Rana’ ya ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, anlayış ve hoşgörüsünü hiçbir zaman esirgemeyen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gökhan Aygün'e, tez boyunca vaktini ve desteğini vererek çalışmalarımda beni yönlendiren saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Nevriye Gönüllü' ye ve yetişmemde emeği geçen anabilim dalı hocalarım sayın Prof. Dr. Bekir Sami Kocazeybek, Prof. Dr. Arif Kaygusuz, Prof. Dr. Ömer Küçükbasmacı, Prof. Dr. Hrisi Bahar Tokman, Prof. Dr. Kenan Midilli, , Prof. Dr. Fatma Köksal Çakırlar,Prof. Dr. Sevgi Ergim, Doç. Dr. Erdal Polat' a teşekkürü borç bilirim.

Maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman benden eksik etmeyen, her daim bana güvenen babam Mehmet Uğur Öztürk' e, annem İsmahan Öztürk' e, kardeşim Utku Öztürk' e eşim Soner Bilgin' e ve manevi huzur bulduğum kızlarım İkra ve Rana' ya teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... Vİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Vİİİ
ÖZET X
ABSTRACT ..... Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. Tarihçe 2
2.2. MALDI TOF 3
2.3. Gram Boyama 4
2.4. Kan Kültürü 5
2.5. Phoenix 6
3. GEREÇ VE YÖNTEM 7
3.1. Çalışmada Kullanılacak Örnekler 7
3.2. Örneklerin Tanımlanması 7
3.2.1. Kan Kültürü 7
3.2.2. Santrifüj 7
3.2.3. MALDI TOF MS 8
3.2.4. Gram Boyama 9
4. BULGULAR 10
5. TARTIŞMA 20
KAYNAKLAR 26
ETİK KURUL KARARI 33
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 35
ÖZGEÇMİŞ 36

TABLOLAR LİSTESİ

TABLO 4-1: POZİTİF KAN KÜLTÜRLERİNE AİT HASTA BİLGİLERİ 10
TABLO 4-2: POZITIF KAN KÜLTÜRLERINDEN IZOLE EDILEN MIKROORGANIZMALARIN MALDI TOF MS VE BD PHOENIX SONUÇLARININ CINS DÜZEYINDE KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDIRMESI .. 17
TABLO 4-3: POZİTİF KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALARIN MALDI TOF MS VE BD PHOENİX SONUÇLARININ TÜR DÜZEYİNDE KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDİRMESİ .. 18

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

MALDI-TOF: Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry

E. coli: Escherichia coli

S. aureus: Staphylococcus aureus

S. capitis: Staphylococcus capitis

E. faecalis: Enterococcus faecalis

C. albicans: Candida albicans

S. pneumoniae: Streptococcus pneumoniae

S. pyogenes: Streptococcus pyogenes

H. influenza: Haemophilus influenzae

E. faecalis: Enterococcus faecalis

C. perfringens: Clostridium perfringens

P. aeruginosa: Pseudomonas aeruginosa

N. meningitidis: Neisseria meningitidis

Y. pestis: Yersinia pestis

H. capsulatum: Histoplasma capsulatum

B. fragilis: Bacteroides fragilis

A. baumannii: Acinetobacter baumannii

HCCA: Hidroksisinamik asit

GC: Gaz kromatografisi

MS: Kütle Spektrometresi

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

rRNA: Ribozomal Ribonükleik Asit

LPS: Lipopolisakkarit

ID: İdentifikasyon (Mikrobiyal Kimlik)

AST: Antimikrobiyal Duyarlılık Testi

ÖZET

Bilgin C.T.(2019). Pozitif Kan Kültürlerinde MALDI_TOF Yöntemi Kullanarak Hızlı Bakteri, Maya İdentifikasyonu. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

MALDI TOF MS' in patojen mikroorganizmaların hızlı tanımlanabilmesi için ortaya çıkması mikrobiyoloji alanında önemli bir gelişmedir. Yöntem sonraları doğrudan pozitif kan kültüründen patojenler için ekstraksiyon yöntemleriyle birleştirildi ve bu kan kültür şişelerinde güvenilir bir tür tanımlama imkanı sağladı. Pozitif kan kültürü, patojenin gram boyanma özelliğine bakılarak agar plaklara ekilir ve 24-48 saatlik inkübasyon sonrası geleneksel tanımlama ve biyokimyasal testler yapılarak ya da Phoenix gibi otomatize sistemler kullanılarak ki bu sistemler de 6-8 saate gereksinim duyarlar tanımlama işlemi gerçekleştirilirdi. Ancak rutin mikrobiyoloji laboratuarlarına MALDI TOF MS sisteminin gelmesiyle tanımlama işlemi daha da kısalmış, bu ise hastaya erken tedavi ve uygun antibiyotik kullanımını kolaylaştırmıştır.MALDİ TOF MS sistemi ile tanımlama, mikroorganizmaya ait ribozomal proteinler ile gerçekleşmektedir. Dolayısıyla kullanılacak matriks solüsyonu ribozomal proteinleri iyonize edebilmelidir. Ribozomal proteinlerin iyonize olması ise analiz yapılırken pik yoğunluğunu artıracak ve daha güvenilir tanımlama yapabilmeye olanak sağlayacaktır.

Moleküler biyoloji ve konvansiyonel yöntemlerle kıyaslandığında oldukça hassas, hızlı ve düşük maliyetli olması sebebiyle MALDI TOF MS sistemi rutin laboratuvarlarda yerini hemen almıştır.

Çalışmamızda Aralık 2015- Mart 2016 tarihleri arasında 108 hastaya ait pozitif kan kültürleri MALDI TOF MS sistemi ile tanımlanmış olup gram boyanma özellikleri ve Phoenix otomatize sistemleri ile sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kan kültürü, MALDI-TOF, Phoenix, Gram boyama, hızlı tanı

ABSTRACT

Bilgin C.T. (2019). Fast bacteria yeast identification by using MALDI TOF method in positive blood culture. İstanbul University-Cerrahpaşa, Institute of Health Science, Department of Microbiology and Clinical Microbiology. Master thesis. İstanbul.

The development of MALDI TOF MS for the rapid identification of pathogenic microorganisms is an important step in microbiology. The method was combined with extraction methods for pathogens directly from positive blood culture sand this blood allowed the identification of a reliablespecies in blood culture flasks. Positive blood culture is seeded on agar plaques according to the gram staining feature of the pathogen, and after 24-48 hours of incubation, identification process is performed with traditional identification and biochemical tests or using automated systems such as Phoenix which requires 6-8 hours. However, with the introduction of the MALDI TOF MS system in totheroutine microbiology laboratories, the identification process has become shorter time and this has facilitated early treatment and appropriate antibiotic use for the patient. Identification by MALDI TOF MS system is carried out with ribosomal proteins of belonging to microorganism. There fore, the matrix solution to be used should be capable of ionizing ribosomal proteins. Ionization of ribosomal proteins will in crease peak density and allow for more reliable identification when analyzed.

In our study, positive blood cultures of 108 patients between December 2015 and March 2016 were identified by MALDI TOF MS system and the results were compared to gram staining properties and Phoenix automated systems were compared.

KeyWords: Blood culture, MALDI TOF, Phoenix, gram staining, fastdiagnosis.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

MALDI TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry) sistemi, mikroorganizmaları pozitif kan kültür şişelerinden direkt olarak tanımlayabilmektedir. Enfeksiyona yol açan mikroorganizmaların erken, doğru ve hızlı bir şekilde tanımlanması son derece önem taşımaktadır. Bu sayede hastanın yatış süresi kısalacak ve hasta maliyetleri de düşecektir (1). MALDI TOF MS konvansiyonel yöntemlerle karşılaştırıldığında düşük maliyetli, hızlı ve güvenilir bir yöntemdir. MALDI TOF yöntemi, rutin labaratuvarlarda biyokimyasal reaksiyonların incelenmesi amacıyla kullanılan otomatize sistemlerden farklı olarak çalışmaktadır. Otomatize sistemlerde mikroorganizmalara ait olan bir takım farklı biyokimyasal reaksiyonların verdiği sonuçlara göre tanımlama yapılmaktadır. Hâlbuki bir kütle spektrometrisi yöntemi olarak adlandırılan MALDI TOF tekniğinde mikroorganizmaya ait olan protein profilleri incelenmektedir. Profillerin sistemde kullanılan biotyper programı gibi referans bir spektra ile karşılaştırılıp değerlendirilmeleri ile bakteriler kolay bir şekilde tanımlanabilmektedirler (2).

Bu çalışmada; MALDI-TOF MS sisteminin pozitif kan kültür şişelerinden doğrudan hastalık etkeni olan mikroorganizmaları tanımlayabilme etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Bakterilerin tanımlanmasında MALDI-TOF MS sistemi ilk defa 1975 yılında Anhalt ve Fenselau tarafından kullanılmıştır. Labaratuvarlarda rutin olarak kullanıma girmesi ise oldukça yenidir (3).

1970-1980' tarihleri arasında ortaya çıkan eski GC-MS teknolojisinde polimerler ya da oligomerler (örnek vermek gerekirse fosfolipidler) öncelikli olarak saponifikasyon (sabunlaşma) veya hidroliz ile kendilerini oluşturan monomerlerine (ör: yağ asitleri) parçalanmaktadırlar. Monomerler daha sonra iyonik veya hidrojen bağlayan etkileşimleri baskılayıp ve gaz kromatografisinde uçucu olmaya neden olarak kimyasal (ör: metilasyon ile türevlerine ayrılırlar) dönüşüm gösterirler. Bileşen monomerler (ör: metilenmiş yağ asitlerinin karışımı) GC'de geçişi sırasında bileşenlerine ayrıldıktan sonra detektör içinden geçerler. Sık kullanılan GC detektörlerinin tüm yağ asitlerini tespit edebilme özelliği vardır. Burada elde edilen tek bilgi bir yağ asidinin saptanabildiğidir; yağ asidinin GC kolonunda kalma süresi yani kolondan geçme esnasında detektöre ne kadar sürede ulaştığına bağlıdır. Ayrıca, profildeki her bir yağ asidinin tam yapısı kütle spektrometrisi (GC-MS) kullanılarak saptanabilmektedir.

1980 ile 1990 yılları arasında "Soft ionization MS technology" nin kullanılması ile biyomoleküller bileşenlerine ayrılmaksızın, "high performance liquid chromatography " (HPLC) ya da elektroforez yöntemlerine gerek kalmadan incelenebilir duruma gelmiştir. Bu tekniğin önemi büyük moleküllerin (ör: oligonükleotidler, proteinler, PZR ürünleri, peptid) kimyasal bir ön işleme gerek duyulmadan incelenebilecek olmasından ileri gelmektedir.

Daha farklı örnekler verilecek olunursa, 1990 yılı ve sonralarında ortaya atılan, geçmişte çalışılmış yöntemlerden bağımsız fakat, aynı derecede önemli olan diğer bir teknik de "tandem mass spectrometry"dir. Bu teknik sayesinde peptidlerin bilinen dizi incelemeleri yapılmaktadır. Bir MS-MS cihazı, aygıt içinde uçucu halde eksiksiz bir bütün olarak bulunan oligonükleotidleri ya da peptidleri almakta ve bunları yapıtaşlarına ayırmaktadır. Bilindiği üzere, peptidler uzun dizilere sahiptir ve bu dizilerin ne anlam ifade ettiklerini otomatik bir şekilde tanımlayan bir takım programlar

mevcuttur. Bu peptid dizileri, genomik dizilerinden oluşturulmuş protein veri tabanları ile karşılaştırılıp değerlendirildikten sonra daha büyük olan protein kısım tanımlanmaktadır. Uygulanabilirlik açısından kolay olması ve spektrumun hızlı ve doğru bir şekilde anlaşılabilmesi sebebiyle bakteriyel vejetatif hücre ya da sporların doğrudan saflaştırılmasının ardından MALDI-TOF MS çalışmaları daha tanınır duruma gelmiştir. Ayrıca, bu yöntemle sadece 2,000-10,000 Da kütle aralığında hafif bir kütleye sahip ve kolay iyonize olabilen sayıca fazla miktardaki peptidler saptanabilmektedir.

Bununla birlikte 2009 senesinde Seng ve arkadaşlarının, hastalardan elde ettikleri patojen bakteriler ile yapmış oldukları ilk çalışma da yayınlanmıştır (4,5,6,7,8,9).

2.2. MALDI TOF

Günümüzde MALDI-TOF MS (Matriks aracılı lazer dezorbsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi) sistemi mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılan hızlı, düşük maliyetli, güvenilir ve oldukça yeni bir teknolojidir (10,11). Bu yöntemde mikroorganizmaların sahip olduğu biyomoleküllerin (protein, polipeptit,pepton, peptid, monosakkarit) ve polimer organik moleküllerin iyonize olduktan sonra elektrik ya da manyetik alandan geçirildikten sonra protein profilleri oluşturulmaktadır. MALDI TOF tekniğinde protein profil spektralarının sistemde gösterilen grafikleri ile, sistemin veri tabanındaki referans mikroorganizmanın birbirleriyle olan uyumu dikkate alınarak mikroorganizmalar tür ve cins düzeylerinde doğru bir şekilde tanımlanabilmektedir (12,13).

MALDI-TOF MS sistemi, maliyetinin düşük olması, etken mikroorganizmaları hızlı bir şekilde tanımlayabilmesi ile rutin labaratuvarlarda kullanılan konvansiyonel ve moleküler tanımlama yöntemlerine alternatif bir yöntem olarak görülmektedir. Sağlık alanında MALDI-TOF MS yönteminin kullanımı mikrobiyoloji labaratuvarı ile sınırlı değildir. Kanser rahatsızlıklarında, romatoid artirit, nörodejeneratif hastalıklar ve birkaç alerjik hastalıkların tanısında da kullanılabilmektedir (14). MALDI-TOF MS yöntemi ile analize başlamadan önce numune hazırlarken, hastalık etkeni mikroorganizmanın matriks solüsyonu ile karıştırılıp kristalize hale getirilmesi gerekmektedir. Çok az miktarlarda (10^4 ila 10^6 CFU) hazırlanan mikrobiyal biyokütle bile etkeni analiz etmek için yeterli olmaktadır (15). Hazırlanan numuneye matriks solüsyonu tatbik edilmesi bakteri hücresinin lizis olmasını ve o hücreye ait proteinlerin ortaya çıkmasını

sağlamaktadır.Tanımlaması yapılan her bir mikroorganizma için farklı bir spektrum elde edilmesinin nedeni hücrede oldukça fazla bulunan hidrofobik karakterdeki temel proteinlerin saptanmasıdır. Hidrofobik özellikteki bu proteinler genellikle ribozomal proteinler olup büyük çoğunlukla 4 ile 15 kDa aralığında bulunurlar. Ribozomal proteinler mikrobiyal üreme koşulları gibi durumlardan en az etkilenen ve bu nedenle rutin labaratuvarlarda tanımlama için ideal olan proteinlerdir. Analiz için gerekli matriks solüsyonu seçerken özellikle temel hidrofobik proteinlerin iyonizasyonunu sağlayacak olan solüsyonlar tercih edilmelidir (16). MALDI TOF sisteminde analiz edilecek koloninin eski bir kültürden alınması çok doğru bir yöntem değildir. Çünkü rRNA parçalandığı için eski koloniden alınan örnek, pik sayısı ve pik yoğunluğunu düşürmektedir (17).

MALDI-TOF MS tekniğinde hastalık etkeni mikroorganizmaların yanlış tanımlanması ya da bu sistemin hiçbir mikroorganizmayı tanımlayamaması, tekniğin kötü olmasından değil, sistemin veritabanında etken mikroorganizmaya ait yeterli referans spektrumların olmamasından kaynaklanmaktadır (18). Bu bağlamda veritabanının geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar yapılmakta olup yakın tarihte bu sorunun aşılacağı bildirilmektedir (19).

Yöntem maliyet anlamında değerlendirilecek olur ise, cihazın laboratuvara alımındaki maliyeti hariç her bir numune için geleneksel otomatize sistemlerden oldukça ekonomiktir. Bunlara ek olarak, MALDI TOF yöntemi ile yapılan tanımlama işlemi konvansiyonel yöntemlerden oldukça kısa bir zaman zarfında sonuç vermektedir.

2.3. Gram Boyama

Bakteriler hücre duvarı özelliklerine göre ‘gram pozitif bakteriler’ ve ‘gram negatif bakteriler’ olmak üzere iki farklı tipte boyanma özelliği gösterirler.

Gram pozitif bakterilerin hücre duvarlarında peptidoglikan tabakası kalın ve bununla birlikte teikoik asit bulunur. Bu tür bakterilerin hücre duvarı alkol ile renk giderme işleminden etkilenmez ve boyayı yapılarında tutarlar. Böylece bakteri hücresi mikroskop altında koyu menekşe renginde görülür.

Gram negatif bakterilerin hücre duvarında ince bir peptidoglikan tabakası ve LPS (lipopolisakkarit) bulunur. Alkol tatbik edilen hücre duvar yapısı hasara uğrar ve

kristal viyole-iyot kompleksini bırakır. Bu durum hücrenin rengini kaybetmesine yol açar. Safranin ile muamele sonucu hücre mikroskop altında pembe renkte görünür (20).

2.4. Kan Kültürü

‘Pozitif kan kültürlerinin büyük kısmı kan dolaşımı enfeksiyonlarına bağlıdır. Üreyen mikroorganizmaların en kısa sürede saptanarak etken veya bulaş olup olmadığının ortaya konması, etken olarak kabul edilen mikroorganizmanın antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılarak tedavinin doğru yönlendirilmesi mortalite ve morbiditenin azaltılmasında çok önemlidir. Kan kültürü yapılacağında hastadan alınan kan miktarı çok önemlidir. Kan kültürü şişesine alınan kanın miktarı ile hastalık etkeni mikroorganizmanın izolasyonu arasında direkt bir ilişki vardır. Kan kültürü alınma sebepleri:

- Bakteriyel ve fungal enfeksiyon olduğu düşünülen durumlar,
- Endokardit olarak adlandırılan kalp kapağı enfeksiyonlarında,

Kan kültürlerinin alınmasında genel ilkeler:

- Kan kültürü alınması rutin bir tetkik olarak düşünülmemeli eğer klinik gereklilik var ise kan kültürü alınmalıdır.
- Santral venöz kateter, diyaliz katateri gibi herhangi bir plastik enfeksiyöz odak oluşturabilecek aletten kan kültürü alınması, kateter ilişkili enfeksiyon şüphesi durumunda uygulanmalıdır.
- Periferik damar yolundan kan kültürleri alınmamalıdır.
- Bakteriyal ya da fungal enfeksiyon varlığında erişkinlerde ayrı venlerden iki set kan kültürü alınmalıdır.
- Sepsis ya da bakteriyemi durumlarında antibiyotik tedavisine başlanmadan önce kan kültürleri alınmalıdır. Hasta antibiyotik tedavisine başladıysa, kan kültürleri antibiyotik dozundan hemen önce alınmalıdır.

Kan kültüründen sıklıkla izole edilen mikroorganizmalar gram pozitiflerde; *S. aureus*, viridans streptokoklar, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *C. perfringens*, anaerobik streptokoklar, gram negatiflerde ise; *Salmonella typhi*, diğer Salmonella serovarları, *P. aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, *E.coli*, *Proteus spp.*, *Bacteroides fragilis*, *Neisseria meningitidis*, *Yersinia pestis*, *Brucella spp.*, *Haemophilus influenzae*,

mayalarda; *C. albicans* ve diğer candida türleri, *C. neoformans*, *H. capsulatum*' dur (21).'

2.5. Phoenix

'Phoenix, aerop ve gram negatif bakteriler yanında aerop ve anaerobik gram pozitif bakteriler için hızlı sonuçlar verir (22). Phoenix ID panellerinde kullanılan testlerin çoğu, klasik yöntemlerin değişmiş biçimidir. Bu testler çeşitli substratların fermentasyonu, oksidasyonu, degradasyonu ve hidrolizine yöneliktir. Bunlara ek olarak Phoenix sistemi organizmaların kimliğinin tanımlanmasında kromojenik ve florojenik substratların yanı sıra tek karbon kaynaklı substratları da kullanır (22). Günümüzde kullanılan modern broth mikro seyreltme testinin kökleri 1942 yılında Rammelkamp ve Maxon tarafından klinik örneklerde bakteriyel izolatların in vitro antimikrobiyal duyarlılık testinin belirlenmesinde kullanılan tüp seyreltme testine uzanmaktadır. Broth seyreltme tekniği, seri iki katlı seyreltme ile bakterilerin sıvı ortamında azalan konsantrasyonlara sahip antimikrobiyal maddelere maruz bırakılmasını içerir. Gözle görünür hiçbir büyümenin gerçekleşmediği en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonu, minimal inhibitör konsantrasyonu olarak tanımlanır (22). Phoenix AST, iki kat broth seyreltme tekniğinin değiştirilmiş minyatür biçimidir. Phoenix sisteminde duyarlılık testi, Phoenix panellerinde sürekli olarak inkübe edilen ve okunan mikro kuyucuklarda AST göstergesinin yardımıyla test edilen antimikrobiyal maddenin çeşitli konsantrasyonlarıyla birlikte bakteriyel büyümenin saptanması yoluyla gerçekleştirilir (22).

Phoenix birleşim panelleri kullanıldığı sırada Phoenix cihazında maksimum 100 kimlik ve antimikrobiyal duyarlılık testi gerçekleştirilebilir. Yüz otuz altı mikro kuyucuk içeren kurutulmuş reaktiflerle kapalı ve kendi kendini inoküle eden kalıplı polistiren tepsi, tek kullanımlık Phoenix ürünü görevi görür. Birleşim paneli, bakteriyel kimlik için kuru substratlar içeren bir ID tarafı ve uygun kuyucuk konumlarında değişen konsantrasyonlarda antimikrobiyal maddeler. Büyüme ve floresan kontrolleri içeren bir AST tarafından oluşur (22).

Phoenix panelleri inokülasyondan sonraki 30 dakika içinde phoenix cihazına yerleştirilmelidir. Paneller yalnızca Phoenix cihazı tarafından okunur, manuel olarak okunamaz.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılacak Örnekler

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında incelenen pozitif kan kültüründen 108 örnek dahil edildi. Örneklerden 50'si erkek hastalara, 58 tanesi ise bayan hastalara aittir. Hastaların yaşı 3 günlük ve 87 yaş aralıklarını kapsamaktadır. Etken şişeden doğrudan alınıp Gram preparatlar hazırlandı ve Gram boyama yöntemi ile incelendi. Phoenix ve MALDI TOF MS otomatize sistemleri ile ileri tanımlamalar yapıldı.

3.2. Örneklerin Tanımlanması

Çalışmada, şüpheli hastalardan alınan kan örnekleri BACTEC Plus kan kültür şişelerine (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, ABD) inoküle edildi. Pozitif sinyal veren cihazın kan kültür şişelerinden EMB ve % 5 koyun kanlı agara pasaj yapıldı. Ekim yapılan agarlar 35ºC 'de % 5-10 karbondioksit (CO^2' li) içeren etüvde 18 ile 24 saat inkübe edildi. Üreyen mikroorganizmaların koloni morfolojilerine bakıldı. Gram boyamaları yapıldı. Daha sonra Phoenix otomatize sistemle ileri tanımlama işlemleri yapıldı.

3.2.1. Kan Kültürü

Hastanenin uygulama kılavuzu doğrultusunda kan kültür şişelerinin uygun olup olmadığı kontrol edildikten sonra teslim alındı. Eğer örneğin alınmasının üzerinden 2 saatten fazla bir süre geçmişse şişe görsel açıdan değerlendirildi. Kan örnekleri laboratuvara getirildiğinde otomatik cihazın inkübatörüne yerleştirildi. Pozitif kan kültürü sinyal verdikten 2 saat sonra alındı. Enjektör yardımıyla şişeden 8 ml örnek alınıp serum separatörlü tüpe (sarı kapaklı) konuldu.

3.2.2. Santrifüj

Separatörlü tüpe alınan örnek 3000 rpm' de 4 dakika santrifüj edildi. Süpernatan alındı ve 5000 rpm' de 5' er dakika olmak üzere iki defa santrifüj edildi. İşlem bittiğinde bu kez süpernatan atılıp pelete serum fizyolojik ilave edilerek 5000 rpm' de 5' er dk iki defa santrifüj edildi.

3.2.3. MALDI TOF MS

Bakterilerin tanımlaması MALDI-TOF MS Bruker Microfex LT model Flex Control 3.0 yazılımı (Bruker Biotyper; Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) kullanılarak yapıldı. Örneğe 1 µl % 70'lik formik asit ilave edilip kurumaya bırakıldı. Daha sonar örnekten 1 µl alınıp MALDI kuyusuna konuldu ve oda ısısında kuruması beklendi. Kuyudaki örnek kuruduktan sonra protein yapıdaki biyomarkerların tespit edilmesi için üzerine 1 µ-siyano-4-hidroksisinamik asit (HCCA) matriks solüsyonu ilave edildi bu sayede örnek kristalize hale getirildi ve tekrar oda ısısında kuruması için beklendi. Kuruyan MALDI kuyularındaki örnekler cihaza yerleştirilip analiz işlemine başlandı. Mikroorganizma tanımlamasının en iyi şekilde gerçekleşebilmesi için 2000-20.000 Da kütle aralığında ve pozitif iyon dengesinde ölçümler gerçekleştirildi. Kuruyan MALDI plakları cihaza konulurken sisteme hava girişi olduğu için cihaz içi vakum bozulur bu nedenle analize başlamadan önce cihaz içi vakum tekrar sağlandı ve örnekler lazer bombardımanına uğradı. İyon 340 nm'de, 60 Hz frekansta nitrojen lazer, iyon kaynağı olarak kullanıldı. Bu basamakta MALDI kuyularındaki matriks örnek karışımları lazerden enerji alır. Buharlaşan iyonların gaz fazına geçmesini sağlayan bu enerji ölçümün doğru yapılabilmesi için son derece önemlidir. Elektromanyetik bölgede serbest kalan iyonlar hızlandırılıp uçuş tüpüne geçer. İyonların kütle ağırlıkları uçuş tüpünde kaldıkları süreye bakılarak tespit edildi. Çok az miktardaki mikrobiyal biyokütle ile analiz işlemi gerçekleştirildi. Cihaz ölçüm sonuçlarına 0-3 arasında skor vermektedir. Ölçüm sonucu bilgisayar ekranında 1,7 ve altını kırmızı, 1,7-1,99 arasını sarı, 2,00 ve üstünü ise yeşil renk ile göstermektedir. Kırmızı renk, cihazın verdiği sonucun güvenilir olmadığını; sarı renk, Kabul edilebilir ve iyi olduğunu; yeşil renk ise ölçümlerin güvenirliğinin yüksek olduğunu ifade etmektedir.

MALDI TOF MS ile yapılan analiz sonucu, Phoenix cihazının yaptığı ileri tanımlama işlemi ile karşılaştırıldığında; MALDI TOF MS cihazının verdiği skor kırmızı renkte ise ve Phoenix' in verdiği sonuç ile uyumlu değilse örnek tekrar aynı basamaklardan geçirilip MALDI plağına konulup cihaza yüklendiğinde, atış yapılması istenilen noktalar bilgisayar ekranında belirlenip lazer atışları yapıldı. MALDI TOF MS cihazının vermis olduğu analiz sonuçları ve Phoenix'in vermis olduğu sonuçlar karşılaştırılıp tanımlama işlemlerinin birbirleriyle olan tutarlılığı gözlendi.

3.2.4. Gram Boyama

Boyanmaya hazır sabitlenmiş preparatlar, boyaması yapılmak üzere standa yerleştirildi. Boyamanın ilk solüsyonu olan Kristal viyole lam üzerine döküldü ve 30 saniye beklendi. Kristal viyole preparation üzerinden akıtıldı, lam hafif açılı tutularak su ile yıkandı. Ardından preparat lügol solüsyonu ile kaplandı ve 30 saniye beklendikten sonar su ile yıkandı. Alkol ile kısa bir muameleden sonra preparat tekrar yıkanıp son olarak safranin damlatılarak 30 saniye sonar yıkanıp kurumaya alındı.

Hazırlanan preparat mikroskobun öncelikle düşük büyütmesinde (10×objektif, 10×oküler = ×100 büyütme) incelendi; boyamanın kalitesine ve hücrelerin düzenli dağılım gösterip göstermediğine bakıldı. Daha sonar yüksek büyütmede, mikroskobun 100×immersiyon objektifi (×1000 büyütme) altında yapıldı. Gram (+) pozitif bakteriler menekşe rengi olarak nitelendirilen koyu mor renkte; Gram (-) negative bakteriler ise pembe veya kırmızı renkte gözlendiler.

4. BULGULAR

Aralık 2015- Mart 2016 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarımıza gelen çeşitli klinik örneklerden pozitif kan kültürleri çalışmaya alınmıştır. Pozitif kan kültürlerinin ait olduğu hasta bilgileri Tablo 4-1' de görülmektedir.

Tablo 4-1: Pozitif kan kültürlerine ait hasta bilgileri

Hasta no	**Hasta yaşı**	**Örneğin gönderildiği birim**
1	1 yaş	Çocuk hastalıkları metabolizma servisi
2	71 yaş	Genel cerrahi
3	72 yaş	Psikiyatri kadın servisi
4	1 yaş	Çocuk hastalıkları metabolizma servisi
5	72 yaş	Psikiyatri kadın servisi
6	62 yaş	Acil polikliniği
7	3 ay	Çocuk cerrahisi
8	1 yaş	Çocuk acil servisi
9	72 yaş	Acil polikliniği
10	72 yaş	Acil polikliniği

11	1 yaş	Çocuk hast. metabolizma servisi
12	4 yaş	Yoğun bakım çocuk servisi
13	1 yaş	Çocuk hast. metabolizma servisi
14	71 yaş	Genel cerrahi
15	79 yaş	Kalp damar yoğun bakım servisi
16	73 yaş	Yoğun bakım servisi
17	79 yaş	Kalp damar yoğun bakım servisi
18	42 yaş	Acil cerrahi
19	3 yaş	Çocuk cerrahi
20	50 yaş	İç hastalıkları dahiliye polikliniği
21	50 yaş	İç hastalıkları dahiliye polikliniği
22	72 yaş	Psikiyatri
23	15 yaş	Çocuk hastalıkları acil
24	50 yaş	İç hastalıkları
25	70 yaş	Kardiyoloji

26	51 yaş	Genel cerrahi
27	38 yaş	Acil
28	11 günlük	Çocuk acil
29	3 yaş	Çocuk cerrahi
30	79 yaş	Yoğun bakım
31	81 yaş	Acil cerrahi
32	53 yaş	KBB polikliniği
33	69 yaş	Acil polikliniği
34	55 yaş	Acil polikliniği
35	55 yaş	Acil polikliniği
36	3 yaş	Çocuk cerrahi
37	6 yaş	Çocuk hastalıkları gastroenteroloji servisi
38	77 yaş	Acil polikliniği
39	81 yaş	Göğüs hastalıkları
40	1 yaş	Çocuk hastalıkları acil servisi
41	17 günlük	Çocuk hastalıkları
42	11 yaş	Çocuk hastalıkları
43	5 yaş	Hematoloji onkoloji servisi

44	85 yaş	Acil polikliniği
45	85 yaş	Acil polikliniği
46	77 yaş	Acil gözlem
47	18 yaş	Ortopedi ve travmatoloji
48	18 yaş	Ortopedi ve travmatoloji
49	98 günlük	Çocuk hastalıkları enfeksiyon servisi
50	78 yaş	Plastik cerrahi
51	53 yaş	Acil polikliniği
52	51 yaş	Acil polikliniği
53	66 yaş	Genel cerrahi
54	60 yaş	Acil polikliniği
55	60 yaş	Acil polikliniği
56	87 yaş	Acil polikliniği
57	87 yaş	Acil polikliniği
58	80 yaş	Acil polikliniği
59	60 yaş	İç hastalıkları
60	60 yaş	İç hastalıkları
61	23 günlük	Çocuk cerrahi

62	55 yaş	Kadın doğum
63	55 yaş	Kadın doğum
64	78 yaş	Plastik cerrahi
65	47 yaş	Göğüs hastalıkları
66	6 aylık	Çocuk hastalıkları
67	73 yaş	Acil polikliniği
68	50 yaş	Acil polikliniği
69	73 yaş	Acil polikliniği
70	73 yaş	İç hastalıkları nefroloji
71	1 yaş	Çocuk hastalıkları nefroloji
72	69 yaş	Üroloji
73	3 günlük	Çocuk yoğun bakım
74	56 yaş	Nöroşirurşi
75	45 yaş	Dahiliye
76	45 yaş	Dahiliye
77	58 yaş	Genel cerrahi
78	3 yaş	Çocuk cerrahi
79	50 yaş	Anestezi cerrahi
80	56 yaş	Nöroşirurşi

81	66 yaş	Anestezi cerrahi yoğun bakım
82	50 yaş	Göğüs hastalıkları
83	46 yaş	Acil polikliniği
84	65 yaş	genel cerrahi
85	50 yaş	Acil polikliniği
86	39 yaş	Anestezi cerrahi yoğun bakım
87	50 yaş	Genel cerrahi
88	50 yaş	Genel cerrahi
89	10 yaş	Çocuk cerrahi
90	65 yaş	Genel cerrahi
91	75 yaş	Anestezi cer. yoğun bakım
92	81 yaş	Anestezi cer. yoğun bakım
93	61 yaş	Kadın doğum
94	50 yaş	Acil polikliniği
95	50 yaş	Acil polikliniği
96	28 yaş	Göğüs hastalıkları
97	28 yaş	Göğüs hastalıkları
98	28 yaş	Göğüs hastalıkları

99	28 yaş	Göğüs hastalıkları
100	81 yaş	Anestezi cer. yoğun bakım
101	75 yaş	Anestezi cer. yoğun bakım
102	28 yaş	Göğüs hastalıkları
103	12 günlük	Çocuk hast. Yoğun bakım
104	3 yaş	Çocuk cerrahi
105	68 yaş	Üroloji
106	2 yaş	Çocuk hast. nefroloji
107	14 yaş	Çocuk hast. kardiyoloji
108	47 günlük	Çocuk acil

Tablo 4-2: Pozitif kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların MALDI TOF MS ve BD Phoenix sonuçlarının cins düzeyinde karşılaştırmalı değerlendirmesi

Etken mikroorganizma	MALDI TOF MS	PHOENİX
Candida	13	13
Enterecoccus	14	14
Klebsiella	3	3
Escherichia	8	8
Staphylococcus	38	38
Bacillus	2	2
Mycobacterium	1	1
Acinetobacter	3	3
Streptococcus	2	2
Blastomonas	1	1
Pseudomonas	2	2
Tricosporon	1	1
Corynebacterium	1	1
Micrococcus	1	1

Tablo 4-3:Pozitif kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların MALDI TOF MS ve BD Phoenix sonuçlarının tür düzeyinde karşılaştırmalı değerlendirmesi

Etken Mikroorganizma	PHOENİX	MALDI TOF MS
Candida orthopsilosis	2	2
Klebsiella pneumoniae	4	4
Staphylococcus capitis	4	4
Candida albicans	11	11
Enterococcus sp.	3	*Enterococcus faecalis*
Enterococcus faecalis	9	9
Staphylococcus epidermis	20	20
Staphylococcus hominis	9	9
Staphylococcus haemolyticus	2	2
Escherichia coli	10	10
Staphylococcus sp.	7	*Staphylococcus aureus*
Staphylococcus aureus	3	3
Streptococcus thecmophilus	1	1
Streptococcus salivarius	1	1
Streptococcus peroris	1	
Mycobacterium tuberculosis	1	
Campylobacter curvus	1	
Pseudomonas stutzeri	1	*Pseudomonas aeruginosa*
Pseudomonas aeruginosa	1	1
Corynebacterium afermentons	1	
Staphylococcus arlettae	1	*Staphylococcus aureus*
Acinetobacter pitii	1	1
Acinetobacter baumannii	2	1
Bacillus pumilis	1	
Candida lipolytica	1	1
Candida glabrata	2	1
Filifactorvillosum	1	
Klebsiella oxytoca	1	
Microbacteriumdextranolyticum	1	
Micrococcus luteus	1	
Abiotrophia defective	1	

Çalışmamızda 108 hastaya ait kan kültür şişelerinden pozitiflik tespit edilmiştir. Bu hastaların 13'ünde Candida, 14'ünde Enterecoccus, 3'ünde Klebsiella, 8'inde Escherichia, 38'inde Staphylococcus, 2'sinde Bacillus, 1'inde Mycobacterium, 3'ünde Acinetobacter, 2'sinde Streptococcus, 1'inde Blastomonas, 2'sinde Pseudomonas, 1'inde Tricosporon, 1'inde Corynebakterium, 1'inde Micrococcus saptanmışve 10 hastaya ait kan kültürü şişesinde yeterli sayıda koloni olmadığı için üreme tespit edilememiştir. Örnekler Microflex MALDI-TOF sistemi, BD Phoenix, ve de kültürleri yapılarak çalışılmış ve referans yöntem olan Phoenix ile sonuçlar karşılaştırılmıştır. Örneklere cins düzeyinde bakıldığında Stafilococcus, Candida, basil türlerini %100 oranında doğru tanımlandığı saptanmıştır. Skorlar 2.00' nin üzerinde değerlerdedir.

5. TARTIŞMA

Kroumova ve arkadaşları, MALDI TOF MS tekniği ile 79 adet pozitif kan kültür şişesini çalıştıklarını ve stafilokokların tümünü doğru tanımladığını bildirmişlerdir (23).

Sarıgüzel ve arkadaşları, 175 pozitif kan kültüründe maya saptamışlardır. 175 maya izolatından 68'inin *C.albicans*, 107'sinin *C.albicans* dışı Candida olarak tanımlandığını ve en sık gözlenen *C.albicans* dışı Candida türünün 67 suş ile *Candida parapsilosis* olduğunu bildirmişlerdir (24).

Scola ve arkadaşları 599 pozitif kan kültür şişesini iki farklı protokol uygulayarak MALDI TOF sisteminde analiz ettiklerini ve gram negatiflerin %94' ünün, gram pozitiflerin %88' inin doğru tanımlandığını bildirmişlerdir (25).

Ferreira ve arkadaşları, enterobakter için tür seviyesinde %89.6, cins seviyesinde ise %97.9 doğru tanımlama yapıldığını, *Acinetobacter baumanii*' yi tür seviyesinde %50, cins seviyesinde %100 doğru tanımlandığını, *E. coli*' yi cins seviyesinde %100, tür seviyesinde %96.5 doğru tanımlandığını, Klebsiellanın cins düzeyinde %100 doğru tanımlandığını, *Pseudomonas aeruginosa*'nın cins seviyesinde %100, tür seviyesinde %87.5, Salmonellanın tür ve cins seviyesinde %100 tanımlandığını bildirmişlerdir (26).

Meex ve arkadaşları 113 anaerobik kan kültür şişesinden pozitiflik tespit ettiklerini ancak bunlardan 6 tanesinin polimikrobiyal 107 tanesinin monomikrobiyal olduğunu bildimişlerdir. Kullandıkları iki yöntem arasında çok farklılık olmadığını gram negatiflerin analiz sonuçlarının gram pozitiflerden daha yüksek olduğunu (%90) bildirmişlerdir (27).

Hariu ve arkadaşları 463 aerob ve anaerob kan kültürünü test ettiklerini ve bunlardan 66 tanesinin pozitif olduğunu, 20 çeşit tür saptadıklarını bildirmişlerdir. Monomikrobiyal olgulardan en sık *S. epidermis, S. aureus, E. coli* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. MALDI TOF analizinde skorun gram negatifler için ≥2.408, gram pozitifler için ≥2.281 olduğunu ve olguların tür düzeyinde %100 doğru sonuç verdiğini bildirmişlerdir (28).

Turhan ve arkadaşları 102 hastaya ait 117 kan kültüründen 117 maya saptadıklarını ve MALDI TOF analiz sonuçlarını standart mikolojik yöntemlerle karşılaştırdıklarını, 115 *Candida spp.* ve 2 tane Candida dışı maya tespit ettiklerini,

sonuçların cins seviyesinde %98.3, tür seviyesinde ise %87.2 doğru olduğunu bildirmişlerdir (29).

Spanu ve arkadaşları MALDI-TOF MS tekniği ile *Candida albicans* izolatlarını %95.9, *C. albicans* dışı Candida'ları ise %86,5 oranında saptayabildiklerini ve MALDI TOF MS tekniğinin polifungal üreme nedeniyle mayaları kan kültüründen doğru bir şekilde izole edemediğini bildirmişlerdir (30).

Stevenson L. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 32 cins ve 60 türü temsil eden 212 pozitif kan kültürünü incelenmiş ve MALDI TOF sonuçları ile biyokimyasal test sonuçları birbiriyle karşılaştırılmıştır. Kan kültüründeki bakteri sayısının yetersiz olması nedeniyle izolatların 42' sinde tanımlama yapılamadığını, (skor <1.7). skoru 1.7' den yüksek olan bakteri izolatlarından 162' si doğru olarak tanımlandığını, *Streptococcus mitis'in* 8 izolatı *Streptococcus pneumoniae* izolatı olarak yanlış tanımladığını, mikroorganizmaların yaklaşık %20' si için yetersiz spektrumlar üretilmesine rağmen S. mitis izolatları hariç skorları ≥1.7 olan tüm tanımlamaların doğru olduğunu bildimişlerdir (31).

Prodhom G ve arkadaşları 126 pozitif kan kültürü ile çalışmışlardır. Ancak iki hastadan alınan 4 kan kültürü polimikrobiyal oldukları için analizden çıkarıldığını bildirmişlerdir. Kalan 122 pozitif kan kültürü arasından 26'sında skorları ≤1.7'den düşük olduğu için güvenilir bir tanımlama elde edilemediğini, *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *H. influenza* doğru tanımlanamayan türler olduğunu, tanımlanabilen 96 izolattan 95'i tür düzeyinde, 1 tanesi ise takım düzeyinde doğru olduğunu bildirmişlerdir (32).

Kılıç ve arkadaşları, 105 hastaya ait 137 kan kültüründe pozitiflik saptamışlar ve MALDI TOF MS sisteminin, stafilokokları cins düzeyinde %100 doğru tanımladığını, 87 izolatı ise tür düzeyinde %96.6 doğru tanımladığını ve MALDI TOF sistemi ile tanımlanan izolatların skorlarının ise ≥1.8' den yüksek olduğunu bildirmişlerdir (33).

Schubert ve arkadaşları, 500 pozitif kan kültür şişesini MALDI TOF yöntemi ile inceleyip, bu yöntemin bakterileri %83.6 oranında doğru tanımladığını bildirmişlerdir (34).

Sakarikou ve arkadaşları 175 pozitif kan kültürü şişesinden etkeni doğrudan MALDI TOF sisteminde analiz ettiklerini ve bunlar içinde 47 örneğin *K. pneumonia*

olduğunu, analiz skorunun ≥2.2' den yüksek olduğunu, sonuçların MIC ve PCR sonuçlarıyla uyumluluğunun yüksek olduğunu bildirmişlerdir (35).

Saffert ve arkadaşları 440 izolatı Phoenix ve MALDI ile çalıştıklarını, Phoenixin tür ve cins seviyesinde sırasıyla %75-%88 seviyesinde doğru tanımladığını; MALDI TOF' un ise sırasıyla %93-%82 seviyesinde doğru tanımladığını, istatiksel sonuçlara göre MALDI TOF' un Phoenixe göre gram negatif basilleri cinslerine göre saptamada daha yüksek performans sergilediğini bildirmişlerdir (36).

Wimmer ve arkadaşları pozitiflik veren 60 kan kültür şişesinden polimikrobiyal olanları çalışmaya dahil etmeyip doğrudan MALDI TOF ve Phoenix ile çalıştıklarını, MALDİ TOF ile yapılan elde ettikleri sonucun geleneksel biyokimyasal yöntemlerle %98 oranında uyumlu olduğunu, Phoenix ve MALDİ TOF arasındaki uyumsuzluğun 16S rRNA gen dizilimi ile çözdüklerini bildirmişlerdir (37).

Almuzara ve arkadaşları 190 katalaz negatif gram pozitif kok izolatlarını iki farklı ekstraksiyon yöntemi kullanarak (formik asit ve etanol formik asit ekstraksiyon yöntemleri) MALDI TOF MS yöntemi ile tanımladıklarını bildirmişlerdir. MALDI TOF MS sonuçlarını; koyun kanlı agardaki koloni morfolojileri, gram boyama özellikleri ve PCR sonuçlarına göre kıyasladıklarını ve izolatların doğrudan formik asitle muamele ile verdiği sonucun cins düzeyinde % 97.89, tür düzeyinde % 94.21 doğru tanımladığını, etanol formik asitle muamele ile izolatları cins düzeyinde % 97.3, tür seviyesinde % 93.1 doğru tanımlandığını bildirmişlerdir (38).

Lin ve arkadaşları 324 monomikrobiyal bakteri kültürünü pozitif kan kültürü şişesinden doğrudan MALDİ TOF MS sistemi ile tanımladıklarını ve çalışmada iki aşamalı santrifüj işlemi ile bir lizis tamponu uyguladıklarını, gram negatif aeroblarda tanımlanma başarısının % 85, gram pozitif aeroblarda % 78.2, anaerob bakterilerde % 67 olduğunu bildirdiler (39).

Barberino ve arkadaşları 538 pozitif kan kültür şişesini doğrudan MALDI TOF MS ile tanımladıklarını ve çalışırken 1 µl pozitif kan örneğini %2' lik saponin ile ependorf tüpte vortekslediklerini, ardından oda sıcaklığında 5 dk bekletip santrifüjledikten sonra süpernatanı atıp 1 µl steril damıtılmış su ile vortekslediklerini ve peleti oda sıcaklığında havayla kuruttuktan sonra formik asit, matriks solüsyonlarını örneklere damlatıp tanımlama işlemine başladıklarını bildirmişlerdir. Çalışma sonunda

gram negatif bakterilerde %93.5, gram pozitiflerde %84.7 oranında doğru tanımlama gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir (40).

Frederic ve arkadaşları çalışmaları sırasında iki farklı ticari kit kullanarak tanımlama yaptıklarını ve her ikisinde de MALDİ TOF yönteminin daha az hata sunduğunu, kullanımının kolay ve maliyetin oldukça düşük olduğunu bildirmişlerdir. Pozitiflik veren 127 kan kültürü şişesinden gram negatif bakterilerin daha yüksek tanımlama oranına sahip olduklarını bildirmişlerdir (41).

Tan ve arkadaşları çalışma süresi boyunca 952 izolatı (824 bakteri izolatı ve 128 maya izolatı) MALDİ TOF yöntemi ile tanımladıklarını ve MALDİ TOF protokolünün genel doğruluğunun % 98.3 olduğunu tespit ettiklerini, MALDİ TOF protokolünün tanımlama maliyetini aydınlatmak için biyokimyasal, immünolojik ve genotipik testlerin tümüyle karşılaştırdıklarını ve maldi protokolünün bakteriler, mayalar için birincil tanımlama sistemi olma potansiyelini yansıttıklarını gözlemlediklerini bildirmişlerdir (42).

Bille ve arkadaşları bakteri kolonisini hedef plakanın kuyusuna yerleştirip 1 µl etanol ile kurutmaya bıraktıklarını, maya veya Aspergillus kolonisini hedef plakada 1 µl % 70'lik formik asit ile karıştırdıktan sonra kurumaya bıraktıklarını, her mikobakteriyel suşu 40 µl %70' lik etanol ile karıştırıp kurumaya bıraktıklarını ve tüm mikroorganizmalar için 1 µl matriks solüsyonu ilave ettiklerini bildirmişlerdir. Bakterilerin % 91.4'ünün, mayaların % 98.8'inin, Aspergillusun % 98.4'ünün, mikobakterilerin ise %100'ünün doğru tanımlandığını bildirmişlerdir (43).

Karaduman ve arkadaşları 208 adet ticari olmayan yogurt örneklerinden laktik asit bakterilerini izole edip maldi tof ms yöntemi ile tanımlama yaptıklarını bildirmişlerdir. Agara ekim yaptıktan sonar koloni morfolojilerini gözlemlediklerini, katalaz testi sonuçlarına ve ışık mikroskobu altında gram boyanma özelliklerine baktıklarını, sonuçları MALDI TOF MS ile karşılaştırdıklarını bildirmişlerdir. Çalışmaları sonucunda *Lactobacillus casei, L. paracasei, Enterococcus durans, E. faecium, Enterococcus hirae* bakterilerini diğer konvansiyonel yöntemlere göre maliyeti daha ucuz ve kısa sürede yoğun iş gücü gerektirmeden tanımladıklarını bildirmişlerdir. MALDI TOF yöntemini oldukça başarılı bulduklarını belirtmişlerdir (44).

Fiori ve arkadaşları, 16 yaş üstü hastalardan alınan kan örneklerini MALDI TOF MS ve Bac T/ Alert Plus ve Bactec Plus sistemlerinde

karşılaştırarak çalıştıklarını bildirmişlerdir. Bin otuz iki kan kültürü şişesinden 411 şişenin pozitif sinyali verdiğini ancak bunlardan 216 Bac T Alert şişesinin yalancı pozitiflik olduğunu, kalan 209 pozitif Bac T Alert şişesinin 21 tanesinde ve 195 Bactec şişesinin 20 tanesinde koagülaz negative stafilococcus saptandığını, MALDI TOF sistemiyle yapılan tanımlamanın Bac T/ Alert şişelerinde yetiştirilen izolatların % 88.9, Bactec şişesindeki izolatların %88.1 oranında uyumlu olduğunu saptadıklarını bildirmişlerdir (45).

Tanaka ve arkadaşları, 31 hastadan izole etmiş oldukları 41 adet vitreous humor örneklerini incelemişler ve örneklerde yaygın olarak Staphylococcus spp. tespit etmişlerdir. 41 adet pozitif kan kültürü örneğinden, 37 adet kan örneğinin MALDI-TOF MS ile doğru bir şekilde tanımlandığını, 35 adet gram pozitif bakteri içeren örneklerden, 31 tanesinin MALDI-TOF MS ile doğru tanımlandığını (%88.5), gram negetif örneklerin ise hepsinin MALDI-TOF MS ile doğru tanımlandığını bildirmişlerdir (46).

Verhoeven ve arkadaşları MALDI TOF MS, Film Array BCID Assay ve MALDI TOF MS BCID PANEL ile çalışmalar yapmış olup, 10 aylık çalışma sonucunda 123 hastadan elde edilen 153 adet pozitif kan kültür şişelerini 3 farklı yöntemle test edip sonuçları karşılaştırmışladır.BD BACTEC 9240 sistem (Plus Anaerobic/F bottlesandPlus Aerobic/F) (BectonDickinson, France,Meylan) de 33 mikroorganizmadan 11 Enterococcusun 6'sının skorunun 1.5'in altında olduğunu, 11 adet kan kültür şişesinin her 3 yöntemde de negatif sonuç verdiğini (yalancı pozitiflik) bildirmişlerdir (47).

Huguenin ve arkadaşları, Cerceriae' nin daha hızlı tanımlanması için MALDI TOF yöntemini kullanmışlar ve yeni bir yaklaşım getirmişlerdir. Trematodların parazitolojinin önemli canlı grubu olması dolayısıyla MALDI TOF yöntemiyle hızlı bir şekilde tanımlanıyor olmaları tanı ve tedavi için oldukça önemli bir adımdır. Huguenin ve arkadaşları, Fransa' nın merkezinde dört farklı bölgeden 5 türü temsil eden 22 adet örnek ile çalıştıklarını ve tanımlamanın % 100 oranında doğru olduğunu bildirmişlerdir (48).

Tahir ve arkadaşları, *Aedesaegypti* sivrisineklerinde filarya tespiti için MALDI TOF MS sistemini kullandıklarını ve çalışmalarında 4 ile 6 günlük 534 dişi sivrisinek ile çalıştıklarını, referans yöntem olarak MALDI TOF MS sonuçlarının PCR ile karşılaştırıldığını, MALDI TOF sisteminin 16 S moleküler

sekans tanımlama teknikleriyle eşit, daha iyi doğrulukta, ucuz ve hızlı bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir (49).

Tang ve arkadaşları metisiline direçli *S. aureus* ile metisiline duyarlı *S. aureus* arasındaki farkı gözlemleyebilmek için bakteriyemili hastalardan 10' ar adet klinik izolat aldıklarını, 2,5-dihidroksibenzoik asit matriksi kullanarak inaktive edilmiş bakterileri MALDI TOF MS sistemi ile çalıştıklarını ve MSSA' yı, MRSA' dan % 90 oranında doğrulukla ayırt ettiğini bildirmişlerdir (50).

Çalışmamızda MRSA suşlarının MALDI TOF MS sistemi ile %100 oranında doğru tanımlanmış olması Tang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma ile paralellik göstermektedir.

Kal Çakmaklıoğulları ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Candida suşlarının rutin tanısında yaygın olarak kullanılan yöntemleri, Phoenix ve MALDI TOF MS sistemlerini hız, maliyet ve güvenilirlik açısından birbirleriyle karşılaştırdıklarında; 91 Candida izolatının MALDI TOF MS sistemi ile % 97.8 oranında, Phoenix sistemi ile de % 92.3 oranında doğru bir şekilde tanımladığını bildirmişlerdir (51).

Çalışmamızda 13 Candida örneği MALDI TOF MS ve Phoenix sistemleri ile karşılaştırmalı olarak çalışılmıştır. Candida suşları MALDI TOF MS sistemi ile % 100 oranında doğru bir şekilde tanımlanmıştır. Bu oran, Kal Çakmaklıoğulları ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile paralellik göstermektedir. Candida türlerinin hızlı ve güvenilir şekilde tanımlanması antifungal tedavi için oldukça büyük önem taşımaktadır. Sonuçların MALDI TOF MS sistemi ile dakikalar içinde çıkması tedavi için verilecek karar süresini de kısaltmakta ve bu durum mortalite, morbidite oranlarını da düşürmektedir.

Sonuç olarak, MALDI TOF MS sisteminin konvansiyonel yöntemlere göre bakteri, mantar, parazit enfeksiyonlarında etken organizmayı daha hızlı, düşük maliyetli ve güvenilir tanımlama yapması, klinik tanı açısından son derece önemli ve yenilikçi bir teknoloji olduğunu göstermektedir. Bu sayede hastaların mortalite ve hastahanede yatış süreleri kısalacaktır. Bu durumun ise erken tedavi, maliyet tasarrufu ve halk sağlığı üzerine olumlu yönde katkı sağlayacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kılıç A, Baysallar M. Stafilokoklarınpozitifkankültürşişelerinden MALDI-TOF MS sistemiiledirektolaraktanımlanması. MikrobiyolBul 2014; 48(3): 377-384.
2. Fenselau C, Demirev PA. Characterization of intact microorganisms by MALDI TOF MS. Mass spectrum Rev,20,157-171,2001.
3. Anhalt J P, and Fenselau C. Identification of bacteria using mass spectrometry. Anal. Chem 1975; 47:219-25.
4. Edwards-Jones V, Claydon M A, Evason D J, Walker J, Fox A J , and Gordon D B. Rapid discrimination between methicillin-sensitive and methicillinresistant Staphylococcus aureus by intact cell mass spectrometry. J Med Microbiol 2000; 49:295-300
5. Kumar M P, Vairamani M, Raju R P, Lobo C, Anbumani N, Kumar C P, Menon T, and Shanmugasundaram S. Rapid discrimination between strains of beta haemolytic streptococci by intact cell mass spectrometry. Indian J Med Res 2004; 119:283-8.
6. Barbuddhe S B, Maier T, Schwarz G, Kostrzewa M, Hof H, Domann Chakraborty E T et al. Rapid identification and typing of Listeria species by matrixassisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry. Appl Environ Microbiol 2008; 74:5402-7.
7. Ryzhov V, Hathout Y, and Fenselau C. Rapid characterization of spores of Bacillus cereus group bacteria by matrix-assisted laser desorptionionization time-of-flight mass spectrometry. Appl Environ Microbiol 2000; 66:3828-34.
8. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier P E, Rolain J M, and Raoult D. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin Infect Dis2009; 49:543-51.
9. Croxatto A, Prod'hom G, Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. FEMS Microbiol Rev. 2012;36(2): 380-407.
10. Wieser A, Schneider L, Jung J, Schubert S. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics identification of microorganisms and beyond. Appl Microbiol Biotechnol. 2012;93(3):965-74.

11. Anhalt JP, Fenselau C. Identification of bacteria using mass spectrometry. Anal Chem. 1975;47: 219-25.

12. Marvin LF, Roberts MA, Faya LB. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in clinical chemistry. Clin Chim Acta. 2003;337(1-2):11–21.

13. Yılmaz S, Duyan S, Artuk C, Diktaş H. Mikrobiyolojiktanımlamada MALDI TOF MS uygulamaları. TAF Prev Med Bull 2014;13(5):421-426.

14. Marvin LF, Roberts MA, Faya LB. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in clinical chemistry. Clin Chim Acta. 2003;337(1-2):11–21.

15. Yılmaz S, Duyan S, Artuk C, Diktaş H. Mikrobiyolojiktanımlamada MALDI TOF MS uygulamaları. TAF Prev Med Bull 2014;13(5):421-426.

16. Suh MJ & Limbach PA. Investigation of methods suitable for the matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric analysis of proteins from ribonucleoprotein complexes. Eur J Mass Spectrom (Chichester, Eng). 2004;10: 89–99.

17. Wieser A, Schneider L, Jung J, Schubert S. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics identification of microorganisms and beyond. Appl Microbiol Biotechnol. 2012;93(3):965-74.

18. Eigner U, Holfelder M, Oberdorfer K, Betz-Wild U, Bertsch D, Fahr AM. Performance of a matrixassisted laser desorption ionizationtime- of-flight mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory. Clin Lab. 2009; 55: 289–96. 12.

19. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin Infect Dis. 2009; 49: 543–51.

20. KlinikBakteriyolojiTanıStandartlarıÇalışmaGrubu.TürkiyeHalkSağlığıKurumu. Test prosedürleri.2015.

21. Başustaoğlu A, editör. *Kan KültürüUygulamaKılavuzu.* Ankara.2013.

22. *Phoenix KullanıcıKılavuzu.*

23. Kroumova V, Gobbato E, Basso E, Mucedola L, Giani T, Fortina G. Direct identification ofbacteria in bloodculturebymatrix-assistedlaserdesorption/ionization time-of-flightmassspectrometry: a

newmethodologicalapproach. RapidCommunMassSpectrom 2011; 25(15): 2247-9.

24. Sarıgüzel F, Koç A, Karagöz S. Kan KültürlerindenİzoleEdilen Maya TürleriniVıtek 2 SistemiileTanımlanmasıve Antifungal Duyarlılıkları.Araştırmamakalesi. 06.03.2015.

25. Scola B, Raoult D. Direct identification of bacteria in positive blood culture bottles by malditofms.doi.org/10.1371/journal.pone.0008041.November 25, 2009.

26. Ferreira L., Juanes F., Guerra I.Microorganisms direct identification from blood culture by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry.DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03257. 28 April 2010.

27. .Meex C, Neuville F, Descy J, Huynen P, Hayette M, Patrick De Mol and Melin P. Journal of Medical Microbiology. 61, 1511–1516 (2012).

28. Hariu M, Watanabe Y, Oikawa N, Seki M. Usefulness of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry to identify pathogens, including polymicrobial samples, directly from blood culture broths.Doi: 10.2147/IDR.S132931. 2017 Apr 19.

29. Turhan O, Ozhak-Baysan B, Zaragoza O, Er H, Sarıtas ZE, Ongut G, Ogunc D, Colak D, Cuenca-Estrella M.Evaluation of MALDI-TOF-MS for the Identification of Yeast Isolates Causing Bloodstream Infection.doi: 10.7754/Clin.Lab.2016.161101.

30. . Spanu T, Posteraro B, Fiori B, et al. Direct malditof mass spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of Candida species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories. J Clin Microbiol. 2012 ;50(1):176-79.

31. . Lindsay G. Stevenson, Steven K. Drake, Patrick R. Murray. Rapid Identification of Bacteria in Positive Blood Culture Broths by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. journal of clinical microbiology, Feb. 2010.p. 444–447 Vol. 48, No. 2 0095-1137/10/$12.00 doi:10.1128/JCM.01541-09.

32. Prodhom G, Bizzini A, Durussel C, Bille J, Greub G.Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Direct Bacterial

Identification from Positive Blood Culture Pellets. doi: 10.1128/JCM.01780-09 J. Clin. 17 February 2010.

33. Kılıç A, Baysallar M. Stafilokoklarınpozitifkankültürşişelerinden MALDI-TOF MS sistemiiledirektolaraktanımlanması. MikrobiyolBul 2014; 48(3): 377-384.

34. Schubert S, Weinert K, Wagner C, et al. Novel, improvedsamplepreparationforrapid, directidentificationfrompositivebloodculturesusingmatrix-assistedlaserdesorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) massspectrometry. J MolDiagn 2011; 13(6): 701-6.

35. Sakarikou C, CiottiM ,Dolfa C, Angeletti S, Favalli C.Rapid detection of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae strains derived from blood cultures by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS).Doi: 10.1186/s12866-017-0952-3. 2017 Mar 8.

36. Saffert R., Cunningham S., Ihde S., Jobe K., Mandrekar J., Patel R.Comparison of Bruker Biotyper Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometer to BD Phoenix Automated Microbiology System for Identification of Gram-Negative Bacilli. J.Clin.Microbiol.March 2011cilt.49numara.3887-892.

37. Wimmer J., Long S., Cernoch P., Kara G., Davis J., Musser J., Olsen R. Strategy for rapid identification and antibiotic susceptibility testing of gram-negative bacteria directly recovered from positive blood cultures using the brukermaldıbiotyper and the bd phoenix system.j. clin.microbiol.july 2012. cilt50. no 72452-2454.

38. Almuzara M., Barberis C., Velazquez V., Ramirez M., Famiglietti A., Vay C. Matrix-assisted laser desorption ıonization-time-of-flight mass spectrometry (maldı-tofms) as a reliable tool to ıdentify species of catalase-negative gram-positive cocci not belonging to the *Streptococcus* genus.Received 2016 Mar 5; Revised 2016 Nov 4; Accepted 2016 Nov 11.

39. Lin J., Ge M.,Lliu T., Chang S., Lu J.A simple method for rapid microbial identification from positive monomicrobial blood culture bottles through matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry.Division of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine,

Chang Gung Memorial Hospital at Linkou, Taoyuan, Taiwan. Received 24 November 2016; received in revised form 4 March 2017; accepted 15 March 2017.

40. Barberino M., Silva M., Arraes A., Correia L., Mendes A. Direct identification from positive blood broth culture by matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Hospital São Rafael, Salvador, BA, Brazil. 14 March 2017.

41. Frédéric Ric S., Antoine M., Bodson A, Lissoir B. Bacterial Rapid Identification With Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry: Development Of An 'In-House Method' And Comparison With Bruker Sepsityper Kit.Trainee In Laboratory Medicine, UniversitéCatholique De Louvain ,Belgique. 2015 May 6.

42. Tan K.E., Ellis B.C., Lee R., Stamper P.D., Zhang S.X.,Carrol K.C. Prospective Evaluation Of A Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time Of Flight Mass Spectrometry System İn A Hospital Clinical Microbiology Laboratory For Identification Of Bacteria And Yeasts: A Bench-By-Bench Study For Assessing The Impact On Time To Identification And Cost-Effectiveness. Johns Hopkins University School Of Medicine, Baltimore, MD, USA. 2012 Aug 1.

43. Bille E., Dauphin B., Leto J., Bouqnoux ME., Beretti JL., Lotz A., Suarez S., Meyer J. Malditofmsandromas strategy for the routine identification of bacteria, Mycobacteria, yeasts, aspergillus spp. And positive blood cultures.Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 rue de Sèvres, Paris, France. 2011 november 1.

44. Karaduman A, ÖzaslanM, Kılıç H.İ., Bayil-Oğuzkan S, Kurt B.S., Erdogan N. Identification by using MALDI-TOF mass spectrometry of lactic acid bacteria isolated from non-commercial yogurts in southern Anatolia, Turkey. Department of Biology, Faculty of Art and Science, University of Gaziantep, Gaziantep, Turkey.15 mart 2017.

45. Fiori B, D'Inzeo T, Di Florio V, De Maio F, De Angelis G, Giaquinto A, Campana L, Tanzarella E, Tumbarello M, Antonelli M, Sanguinetti M, SpanuT. Performance of two resin-containing blood culture media in

detection of bloodstream infections and in direct matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) broth assays for isolate identification: clinical comparison of the BacT/Alert Plus and Bactec Plus systems. Institute of Microbiology, Catholic University of the Sacred Heart, Gemelli Hospital, Rome, Italy.doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.02.17. J Clin Microbiol. 2014 Oct;52(10):3558-67. doi: 10.1128/JCM.01171-14. Epub 2014 Jul 16.

46. Tanaka T, Oliveira L., Ferreira B., Kato J., Rossi F., Correa, SergioLuisGianottiPimentel, Joyce HisaeYamamoto, JoãoNóbregaAlmeidaJunior.Bactec™ bloodculturebottlesalliedto MALDI-TOF massspectrometry: rapidetiologicdiagnosis of bacterialendophthalmitis.DiagnosticMicrobiologyandInfectiousDisease 88 (2017) 222–224.19 April 2017.

47. P. O. Verhoeven, C. H. Haddar, J. Rigaill, N. Fonsale,A. Carricajo F. Grattardand B. Pozzetto.Comparison of theFullyAutomatedFilmArray BCID Assayto a 4-Hour Culture Test CoupledtoMassSpectrometryforDay 0Identification of Microorganisms in Positive Blood Cultures.Laboratory of InfectiousAgentsandHygiene, UniversityHospital of Saint-Etienne, Saint-Etienne, France. HindawiBioMedResearch International Volume 2018, Article ID 7013470, 6 pageshttps://doi.org/10.1155/2018/7013470.

48. Huguenin A.,Depaquit J.,Villena I.,Ferté H.MALDI-TOF Mass Spectrometry: A New tool for Rapid Identification Of Cercariae (Trematoda, Digenea).Parasite. 2019;26:11. doi: 10.1051/parasite/2019011. Epub 2019 Mar 6.

49. Tahir D, Almeras L, Varloud M, Raoult D, Davoust B, Parola P.Assessment of MALDI-
TOF Mass Spectrometry ForFilariaeDetectionIn*Aedesaegypti*mosquitoes. PLoSNegl Trop Dis. 2017 Dec 20;11(12):e0006093. Doi: 10.1371/journal.pntd.0006093. eCollection 2017 Dec.

50. Tang K, Ranganathan N., Shahrezaei V, Larrouy-Maumus G. MALDI-TOF Mass Spectrometry On İntactBacteriaCombinedWith A Refined Analysis Framework AllowsAccurateClassification Of MSSA And MRSA.PLoSOne.

2019 Jun 27;14(6):e0218951. doi: 10.1371/journal.pone.0218951. eCollection 2019.

51. Kal Çakmaklıoğulları E, Aşgın N, Değerli K.A comparison of thecosts, reliabilityand time of resultperiods of widelyusedmethods, newmolecularmethodsand MALDI TOF-MS in theroutinediagnosis of Candida strains.Mikrobiyol Bul. 2019 Apr;53(2):204-212. doi: 10.5578/mb.67952. Turkish.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI



Sayı : 83045809/604.01/ 07 – 83.663
Konu:

İstanbul .../.../....

02 Mart 2016

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Başkanlığına

İlgi: 13.01.2016 tarih, 64414872-604.01.01-15027 sayılı yazınız.

Anabilim Dalınız öğretim üyesi Prof.Dr.Murat GÜNAYDIN'ın danışmanlığında Yüksek Lisans Öğrencisi Cennet Tuğçe ÖZTÜRK'ün yürüttüğü/düğü "Pozitif Kan Kültürlerinde MALDİ-TOF Yöntemi Kullanılarak Hızlı Bakteri Maya İdentifikasyonu" başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri 01 Mart 2016 tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca incelenerek etiğimiz olduğu Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi, rica ederim.

Prof.Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Klinik Araştırmalar Etik
Kurulu Başkanı

Ek:
1 dosya

Not: Yazılı cevap için yazının geldiği adresin kullanılması rica olunur.
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34098 Cerrahpaşa / İSTANBUL
Telefon 0 (212) 414 30 30 Dahili 22760 Faks 0 (212) 532 30 30 e-mail: etikkurul@istanbul.edu.tr

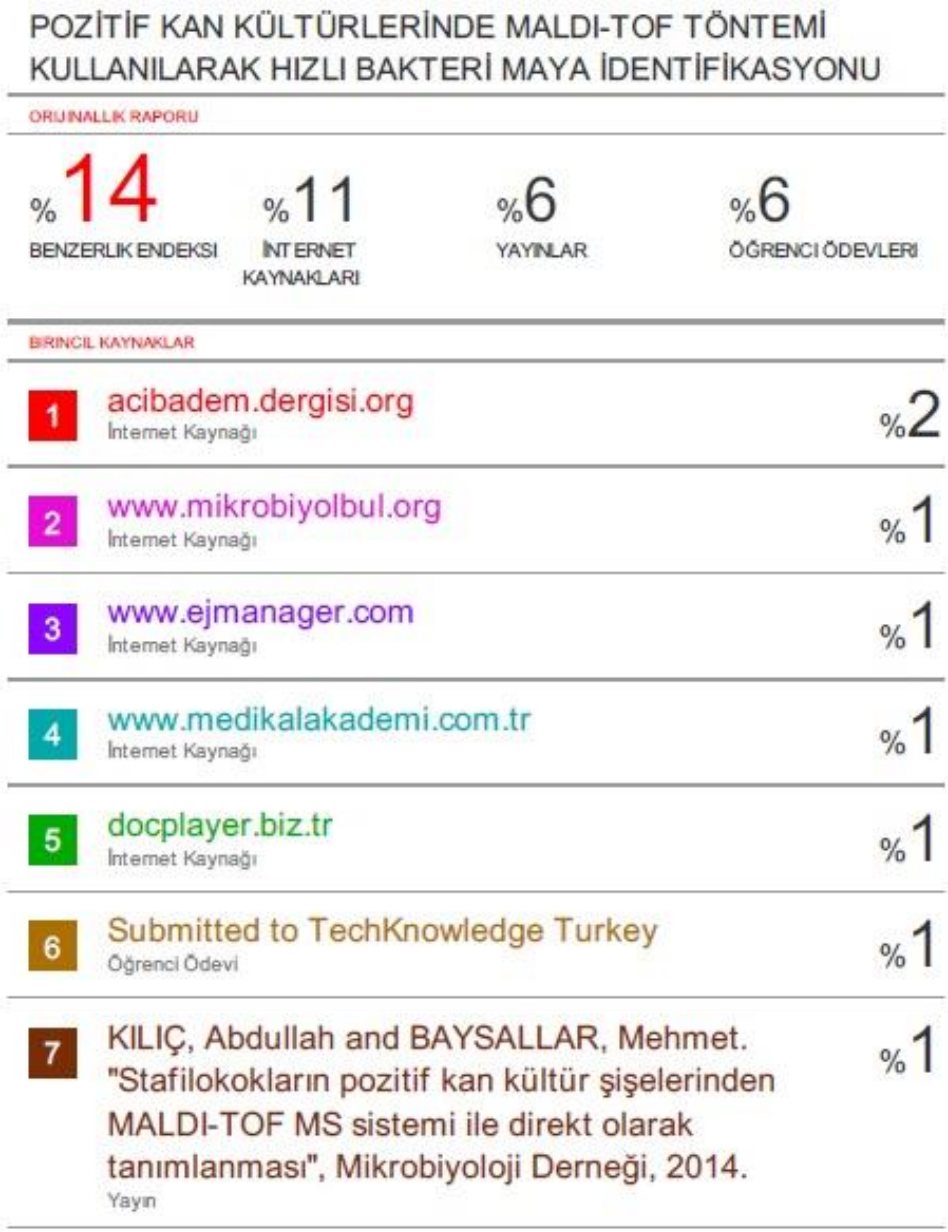
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: A- 03	Tarih: 01 Mart 2016
	Prof.Dr. Murat GÜNAYDIN'nın danışmanlığında Yüksek Lisans Öğr. Cennet Tuğçe ÖZTÜRK'ün sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

ÇALIŞMA ESASI	İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR	

ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı/Soyadı	**Uzmanlık Alanı**	**Kurumu**	**Cinsiyet**	**İlişki ***	**Katılım ****	**İmza**
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR (Başkan)	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mehmet Faik ÖZÇELİK (Başkan Yard.)	Genel Cerrahi	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Muhlis Cem AR (Raportör)	İç Hastalıkları Hematoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Sebahattin SAİP	Nöroloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mahmut Reha BAYAR	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Zeki ÖNGEN	Kardiyoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	Raporlu KONGREDE
Prof. Dr. Ertan YURDAKOŞ	Fizyoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Hatun Hanzade DOĞAN	Deontoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Sibel Özmen ÖZYAZGAN	Farmakoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Yusuf TUNALI	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Suphi VEHİD	Halk Sağlığı	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç.Dr.Zeynep Hande TURNA	İç Hastalıkları Medikal Onkoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Uzm. Dr. Mutlu NİYAZOĞLU	İç Hastalıkları	İst. Eğitim ve Araştırma Hast.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Avukat Ayfer DİKMEN	Ticaret ve Sağlık Hukuku	Serbest Hukuk Bürosu	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Zümrüt GAMLI	Emekli Öğretmen	Sivil Üye	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

* :Araştırma ile İlişki ** :Toplantıda Bulunma

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI



POZİTİF KAN KÜLTÜRLERİNDE MALDI-TOF TÖNTEMİ KULLANILARAK HIZLI BAKTERİ MAYA İDENTİFİKASYONU

ORIJINALLIK RAPORU

%14	%11	%6	%6
BENZERLIK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCI ÖDEVLERI

BIRINCIL KAYNAKLAR

1	acibadem.dergisi.org İnternet Kaynağı	%2
2	www.mikrobiyolbul.org İnternet Kaynağı	%1
3	www.ejmanager.com İnternet Kaynağı	%1
4	www.medikalakademi.com.tr İnternet Kaynağı	%1
5	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	%1
6	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	%1
7	KILIÇ, Abdullah and BAYSALLAR, Mehmet. "Stafilokokların pozitif kan kültür şişelerinden MALDI-TOF MS sistemi ile direkt olarak tanımlanması", Mikrobiyoloji Derneği, 2014. Yayın	%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	CennetTuğçe	**Soyadı**	Bilgin
Doğ.Yeri	Kadıköy	**Doğ.Tar.**	07.02.1991
Uyruğu	T.C.	**TC Kim No**	52489766670
Email	cennettugce@outlook.com.tr	**Tel**	05522192619

Eğitim Düzeyi

	MezunOlduğuKurumunAdı	**Mez.Yılı**
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Ankara Üniversitesi	02.06.2013
Lise	Saray Mustafa ElmasArıcı Anadolu Lisesi	12.06.2009

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	BiyolojiÖğretmeni	Adilcevaz Anadolu Lisesi/Bitlis	2018-2022
2.	BiyolojiÖğretmeni	KültürDershanesi/Kocaeli	2014-2015
3.	BiyolojiÖğretmeni	AçıDershanesi/Ankara	2011-2014

Yabancı Dilleri	**OkuduğunuAnlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İngilizce	iyi	iyi	iyi	47,5	
fransızca	zayıf	zayıf	zayıf	-	

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**EşitAğırlık**	**Sözel**
LES Puanı	70,20	71,39	66,06
(Diğer)Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanmabecerisi**

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):Kitap okumak, el sanatları kurslarına katılmak(ebru, ahşap boyama,batik, makrume işleri, çinicilik, baston yapımı)