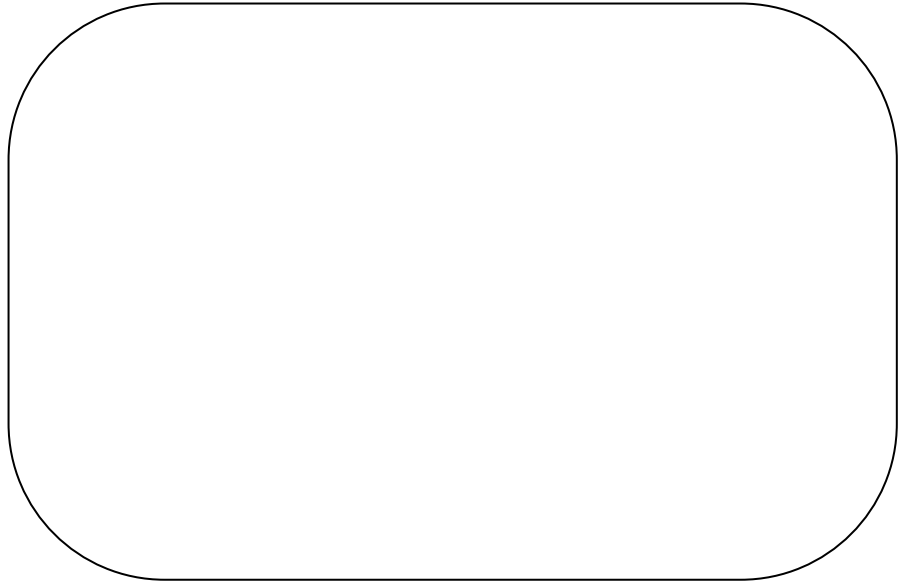




T.C.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ



**STAPHYLOCOCCUS AUREUS İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL
İNTRAABDOMİNAL SEPSİS MODELİNDE BETA GLUKANIN
İMMÜNOMOLÜLATÖR ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Arş. Grv. Dr. Semiha ORHAN

DANIŞMAN
Doç. Dr. Tuna DEMİRDAL

ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİMDALI
AFYONKARAHİSAR-2010

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

***STAPHYLOCOCCUS AUREUS* İLE OLUŞTURULAN
DENEYSEL İNTRAABDOMİNAL SEPSİS
MODELİNDE BETA GLUKANIN
İMMÜNOMODULATÖR ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
ARŞ.GRV.DR. SEMİHA ORHAN

DANIŞMAN
DOÇ.DR. TUNA DEMİRDAL

AFYONKARAHİSAR-2010

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

Tez Başlığı : *Staphylococcus aureus* ile oluşturulan deneysel intraabdominal sepsis modelinde beta glukanın immünomodulator etkisinin araştırılması
Tezi Hazırlayan : Arş. Gör. Dr. Semiha ORHAN
Tez Savunma Tarihi :
Tez Kabul Tarihi :
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Tuna DEMİRDAL

İş bu çalışma jürimiz tarafından ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Doç.Dr. Tuna DEMİRDAL

ÜYE

Doç.Dr. Neşe DEMİRTÜRK

ÜYE

Doç.Dr. Serap DEMİR

ONAY

DEKAN

Prof.Dr. Necat İMİRZALIOĞLU

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım ve uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, tez danışmanım Doç.Dr. Tuna DEMİRDAL'a ve Anabilim Dalı Başkanımız Doç.Dr. Neşe DEMİRTÜRK'e yardımları için teşekkür ederim.

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Doç.Dr. Tülay KÖKEN'e, araştırma görevlisi Buğra KOCA'ya destek ve katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden Doç.Dr. Fatih BİRDANE ve araştırma görevlisi Mustafa KABU'ya teşekkür ederim.

Çalışma istatistikleri konusunda büyük yardımı dokunan Yar.Doç.Dr. Nurhan DOĞAN'a teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca birlikte çalıştığım, asistan arkadaşlarıma, servis hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen babama, anneme ve kardeşlerime sonsuz sevgi, saygı ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

I- GİRİŞ VE AMAÇ	1
II- GENEL BİLGİLER	3
2.1. SEPSİS	3
2.1.1. TANIMLAMALAR	3
2.1.2. EPİDEMİYOLOJİ	7
2.1.3. ETYOLOJİ	8
2.1.4. PATOFİZYOLOJİ	8
2.1.5. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR	15
2.1.6. TANI	18
2.1.7. TEDAVİ	21
2.2. <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	24
2.2.1. MİKROBİYOLOJİ	24
2.2.2. YAPI	25
2.2.3. PATOGENEZ	25
2.2.4. YAPTIĞI HASTALIKLAR	26
2.2.5. TANI	26
2.2.6. TEDAVİ	28
2.3. BETA-GLUKAN	29
III- GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. GRUPLAR VE ÇALIŞMA PROSEDÜRÜ	31
3.2. MİKROBİYOLOJİK DEĞERLENDİRME	32
3.3. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME	33
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	35
IV- BULGULAR	37
4.1. MİKROBİYOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	37
4.2. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	37
V- TARTIŞMA	45
VI- SONUÇLAR	51
VII- ÖZET	52
VIII- SUMMARY	54
IX- KAYNAKLAR	56

KISALTMALAR

ACCP	: American Collage of Chest Physicians
APACHE II	: Akut fizyolojik ve kronik sağlık skorlaması
APC	: Aktive protein C
aPTT	: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
ARDS	: Eriskin sıkıntılı solunum sendromu
BAL	: Bronkoalveoler lavaj
CD 14	: Cluster of differantiation 14
CRP	: C reaktif protein
DIC	: Yaygın intravasküler koagülasyon
ESICM	: European Society of Intesive Care Medicine
GMCSF	: Granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
INR	: İnternasyonel normalizasyon oranı
LBP	: LPS-bağlayıcı proteini
LPS	: Lipopolisakkarit
LTB4	: Lökotrien B4
MODS	: Multipl organ yetmezliği sendromu
MSR	: Makrafaj scavenger (çöpcü) reseptör
NF-kB	: Nükleer Faktör-Kappa B
NK	: Doğal öldürücü
PAF	: Platelet aktive eden faktör
PCT	: Plazma prokalsitonin
PMNL	: Polimorf nüveli lökosit
PT	: Protrombin zamanı
PBP	: Penisilin bağlayan protein
rhAPC	: Rekombinan human aktive protein C
SBG	: Saccharomyces cerevisiae-derived β -1,3/1,6-glucan
SOAP	: The Sepsis occurence in the acutely ill patients
SOFA	: Sequential Organ Failure Assesment

SCCM	: Society of Critical Care Medicine
SIRS	: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
Th	: T Hepler
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TLR	: Toll-like (benzeri) reseptör
TSST-1	: Toksik şok sendromu toksin-1
TXA₂	: Tromboksan A ₂
YBÜ	: Yoğun bakım ünitesi

TABLO LİSTESİ

Tablo I: Sepsisin tanı kriterleri

Tablo II: Sepsis fizyopatolojisinde etkili makrofaj kaynaklı ürünler

Tablo III: Sepsisin inflamatuvar mediyatörlerinin bloke edilmesi için potansiyel tedaviler

Tablo IV: Dördüncü saatte serum IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'nin düzeyleri

Tablo V: Altıncı saatte serum IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'nin düzeyleri

Tablo VI: Sekizinci saatte serum IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'nin düzeyleri

Tablo VII: Grup bazında 4-6-8. saatte serum IFN- γ düzeyleri

Tablo VIII: Grup bazında 4-6-8. saatte serum TNF- α düzeyleri

Tablo IX: Grup bazında 4-6-8. saatte serum IL-1 düzeyleri

Tablo X: Grup bazında 4-6-8. saatte serum IL-6 düzeyleri

GRAFİK LİSTESİ

Grafik I: Dördüncü saatte serum IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'ın düzeyleri

Grafik II: Altıncı saatte serum IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'ın düzeyleri

Grafik III: Sekizinci saatte serum IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'ın düzeyleri

Grafik IV: Grup bazında 4-6-8. saatte serum IFN- γ düzeyleri

Grafik V: Grup bazında 4-6-8. saatte serum TNF- α düzeyleri

Grafik VI: Grup bazında 4-6-8. saatte serum IL-1 düzeyleri

Grafik VII: Grup bazında 4-6-8. saatte serum IL-6 düzeyleri

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis, endojen mediyatörlerin aracılık ettiği, tüm organ ve sistemleri etkileyen, sistemik inflamatuvar bir reaksiyondur (1).

Sepsis modern yoğun bakım ünitelerinin en önemli morbidite ve mortalite nedenlerindedir. Destekleyici tedaviler ve güçlü antibiyotiklere rağmen etkilenen hastalarda %30-70 oranında ölüm ile sonuçlanmakta, yaşayanlarda ise yaşam kalitesini önemli ölçüde düşürmektedir (2).

Enfeksiyona yeterli immün yanıt doğal immün sistem ile; monosit, T hücresi ve nötrofil cevabını içeren özgül immün sistem arasındaki etkileşimi gerektirir. Son yıllarda sepsiste immunopatofizyoloji konusundaki çalışmalar özellikle T hücreleri üzerine yoğunlaşmıştır (3). Sepsiste organizmada görülen hemodinamik, metabolik ve immün değişiklikler; hücreler arası sinyal iletiminde rol alan mediyatörler ve sitokinler aracılığı ile olmaktadır. Sitokinler etkilerini sadece sistemik dolaşıma karışarak değil, direkt hücre- hücre ilişkisi ile ve çok küçük konsantrasyonlarda da ortaya koymaktadır (4).

Aktive olmuş T hücreleri salgıladıkları sitokin etkilerine göre ikiye ayrılır. Bir kısmı inflamatuvar sitokinler olan $TNF\alpha$, IL-1, $IFN\gamma$, IL-12, IL-15 salgılar ve Th1 olarak adlandırılır. Th1 hücreleri bu sitokinler aracılığı ile mikobakteriyel, viral ve mantar enfeksiyonlarının kontrolü için inflamatuvar cevabı uyarırlar. IgM üretimini ve komplemanla birleşebilen spesifik Ig G alt sınıflarının üretimini artırır. Bir kısmı ise antiinflamatuvar sitokin olan IL-2, IL-4, IL-5, IL-13, IL-10, TGF- β salgılar ve Th2 olarak adlandırılır. Th2 hücreleri IL-4 ile uyarılırken $IFN\gamma$ ile baskılanmaktadır (5-7). Bu grup sitokinler Th1 yanıtının gelişimini inhibe eder ve fagositik efektör hücrelerin aktivasyonunu engeller. Th2 yanıtının yüksek olması, konakçının ilerleyici tarzda enfeksiyona maruz kaldığının göstergesidir (8).

Sepsiste tedavi antibiyotik kullanımı, sistemik perfüzyonun idamesi ve kaynak kontrolüdür. Sepsiste kompleman, koagülasyon, kallikrein kinin sistemi gibi konak savunma mekanizmaları aktive olur. Bunlar pro-inflamatuar araçların salınımına ve immün cevabın şiddetlenmesine, mikrovasküler trombus ve doku iskemisi oluşmasına neden olurlar. Endojen anti-inflamatuar ve antikoagülan faktörler bu etkileri azaltmada genelde yetersiz kalır. Son yıllarda konaktaki bu kontrolsüz cevaba müdahaleyi tedavi seçeneği olarak değerlendiren pek çok araştırma yapılmıştır (9).

Beta glukan ekme mayasından (*Saccharomyces cerevisiae*) elde edilen, bağışıklık sistemini güçlendiren doğal bir polisakkarittir. Makrofajların proliferasyonunu, adhezyon yeteneğini, kemotaktik aktivitesini ve sitotoksik özelliklerini artırır (10).

Yapılan pek çok çalışmada beta glukan'ın doku rejenerasyonu, antineoplastik etki, radyasyona karşı koruma ve güçlü antioksidan etkilerin yanı sıra bazı antibiyotikler, antifungal ve antiparazitik ilaçlarla sinerjistik etkileri gösterdiği rapor edilmiştir (11,12).

Beta glukanların çeşitli deneysel çalışmalarla antimikrobiyal immunitiyi artırdığı gösterilmiştir. Hayvan deneylerinde *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *M. lepra* enfeksiyonlarında kullanılmıştır. Sonuçta beta glukan tedavisi ile mortalitenin veya enfekte hayvanlarda bakteri sayısının azaldığı görülmüştür.

Bu çalışmanın amacı, beta glukanın çeşitli enfeksiyöz ve malign hastalık durumlarında karşı vücut koruma mekanizmalarını artırma yeteneğini göz önünde tutarak, *Staphylococcus aureus*'a bağlı intraabdominal sepsiste immünomodulator etkisini araştırmaktır.

II. GENEL BİLGİLER

2.1. SEPSİS

2.1.1. TANIMLAMALAR

Sepsis fizyopatolojisindeki, tanı ve tedavi yöntemlerindeki yeni gelişmelere karşın bugün hala önemini koruyan, enfeksiyona bağlı olarak gelişen, ölümcül bir hastalıktır (13).

Sepsis, yıllar boyunca tıp dünyasının tedavisi güç ve mortalitesi yüksek sorunlarının başında yer almıştır. Günümüzde sepsis yoğun bakım ünitelerindeki en sık ölüm nedenidir (14). Son yirmi yıl incelendiğinde sepsis insidansının artmakta olduğu gözlenmektedir. Enfeksiyon odağının etkin bir şekilde ortadan kaldırılamadığı veya uygun tedavi edilemediği durumlarda sepsis, septik şok ve çoklu organ yetmezliği gelişimi söz konusu olabilir (15,16). Sepsis son derece silik bulgularla seyredebileceği için, tanı kriterleri hatırlanmalı, sepsis olguları atlanmamalı ve acil tedavi başlanmalıdır (17,18).

Sepsis tanımlanmasında ve patofizyolojisinin anlaşılmasında güçlükler devam etmektedir. Tüm klinisyen ve araştırmacıların gereksinimlerini karşılayacak tek bir tanımlama yoktur. Bazı nonenfeksiyöz nedenler de (ör. akut pankreatit, yanık, travma) fizyolojik bozukluk ve organ disfonksiyonu yaparak, akut bir enfeksiyonu taklit edebilir (1,15,19,20).

1992 yılında Amerikan Göğüs Hastalıkları (American College of Chest Physicians- ACCP) ve Yoğun Bakım Dernekleri (Society of Critical Care Medicine-SCCM) bir araya gelerek sepsis tanısı, izlemi ve tedavisinde belli standartları getirmek üzere yaptığı uzlaşma toplantısında sepsis için enfeksiyon tanımı yapılmış ve 'Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu' (Systemic inflammatory response syndrome-SIRS) tanımı getirilmiştir (21). Buna göre;

ENFEKSİYON: Normalde steril olan bir bölgede mikroorganizma bulunmasıdır. Semptomatik, asemptomatik veya subklinik olabilir.

BAKTERİYEMİ: Kanda bakteri bulunmasıdır. Kültürle doğrulanabilir.

SEPSİS: Enfeksiyonun klinik bulguları ve enfeksiyona sistemik cevap bulgularından iki veya daha fazlasının olmasıdır. Sistemik cevap bulguları:

1. Vücut ısısının 38 °C'nin üstünde veya 36 °C'nin altında olması
2. Kalp atım hızının 90/dakikanın üzerinde olması
3. Solunum hızının >20/dakika veya PaCO₂ <32 mmHg olması
4. Lökosit sayısının >12000 /mm³ veya <4000 /mm³ olması veya periferik yaymada band formunun %10'dan fazla olmasıdır.

AĞIR SEPSİS: Sepsis ile birlikte organ fonksiyon bozukluğu, hipoperfüzyon veya hipotansiyonun bulunması durumudur. Hipoperfüzyon ve perfüzyon bozukluğunda, laktik asidoz, oligüri veya mental durumda akut değişiklik bulunabilir. Hipotansiyon; sistolik kan basıncının 90 mmHg'nin altına düşmesi veya hipotansiyonun diğer nedenleri olmaksızın bilinen sistolik kan basıncının bazal değerinin 40 mmHg veya daha fazla aşağı düşmesidir (5,6).

SEPTİK ŞOK: Sepsiste yeterli sıvı tedavisine rağmen, hipotansiyon ile birlikte perfüzyon bozukluğu belirtilerinin (laktik asidoz, oligüri, akut mental değişiklik) devam etmesi durumudur. İnotropik veya vazopressör ajan alan hastalarda, perfüzyon bozukluklarına rağmen hipotansiyon tespit edilmeyebilir (1,22).

SİSTEMİK İNFLAMATUAR CEVAP SENDROMU (SIRS): Başlıca infeksiyöz kaynaklı olan, ancak başka nedenlerle de (yanıklar, pankreatit gibi) gelişebilen ateş ve organ hipoperfüzyonu durumudur. Araştırmacılar SIRS tanısında, klinik bulgularla beraber, serumda IL-6, prokalsitonin veya CRP artışının varlığı kullanılabilir yorumunu yapmışlardır (13). Sepsis, SIRS'nun bir bölümüdür.

Multipl organ yetmezliği sendromu (MODS); akut hastalık tablosu içinde olan hastada organ fonksiyon değişikliklerinin bulunmasıdır. Bu klinik tabloda

tedavisiz hemostaz sağlanamaz. Organ fonksiyon bozukluğu, Marshall tarafından geliştirilen tanımlar veya ‘Sequential Organ Failure Assesment (SOFA)’ skoru kullanılarak tanımlanabilir. Erişkinlerde ağır sepsiste organ fonksiyon bozukluğunu belirlemede en fazla SOFA skoru kullanılması önerilmektedir (23,24).

Pratikte kullanılan sepsis tanı kriterleri tablo I’de gösterilmiştir.

Tablo I: Sepsisin tanı kriterleri (13).

Enfeksiyon <ul style="list-style-type: none">Gösterilmiş veya şüphe edilen enfeksiyon ve aşağıdakilerden bazıları:
Genel parametreler <ul style="list-style-type: none">Ateş (vücut ısısı >38.3 °C) veya Hipotermi (vücut ısısı <36 °C)Kalp atım hızı >90/dk veya yaş için normal değerden >2 SD*Takipne >30/dkMental durum değişikliğiBelirgin ödem veya pozitif sıvı dengesi 24 saatte >20ml/kgHiperglisemi (diyabetin olmadığı durumlarda plazma glikozu >110mg/dl)
İnflamatuvar parametreler <ul style="list-style-type: none">Lökositoz (beyaz küre sayısı >12000/μl) veya lökopeni (beyaz küre sayısı <4000 /μl)>10 immatür formun olduğu normal beyaz küre sayısı
Hemodinamik parametreler <ul style="list-style-type: none">Arteriyel hipotansiyon (sistolik kan basıncının <90 mmHg, ortalama arteriyel basıncın <70 veya sistolik kan basıncının yetişkinlerde >40 mmHg düşmesi veya yaşa göre normal değerden <2 SD* olması)Mikst venöz oksijen saturasyonu >70Kardiyak indeks >3.51 $\text{min}^{-1} \text{m}^{-2}$
Organ disfonksiyon parametreleri <ul style="list-style-type: none">Arteriyel hipoksemi ($\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 300$)Akut oligüri (en az 2 saat idrar çıkışı <0.5 mL/kg)Kreatininde ≥ 0.5 mg/dl artışKoagülasyon anormallikleri (internasyonal normalizasyon oranı (INR) >1.5 veya aktive parsiyel tromboplastin zamanı >60 s)İleusTrombositopeni (trombosit sayısının <100000 /μ l)Hiperbilirubinemi (plazma total bilirubin >4 mg/dl)
Doku perfüzyon parametreleri <ul style="list-style-type: none">Hiperlaktatemi (>3 mmol/l)Kapiller doluşta azalma veya deride renk değişikliği
(*SD: Standart deviasyon)

2.1.2. EPİDEMİYOLOJİ

Sepsis epidemiyolojisi ile ilgili son yıllarda oldukça geniş kapsamlı ve önemli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular sepsis morbidite ve mortalite oranlarının artmakta olduğunu göstermiştir. Sepsis, günümüzde yoğun bakımlardaki en sık ölüm sebeplerinden biridir. (25,26).

European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) tarafından 2002 yılında yoğun bakım hastalarında sepsis ve septik şok insidansını araştırmak üzere bir çalışma başlatılmıştır. SOAP (the Sepsis occurrence in the acutely ill patients) çalışması olarak isimlendirilen bu araştırmada etyolojik, tanısal, terapötik ve prognostik parametreler de değerlendirilmiştir. Toplam 24 ülkedeki 198 yoğun bakım ünitesinde izlenen 3147 hasta (%62 erkek ortalama yaş 61) hastaneden taburcu edildiği gün veya öldüğü güne kadar takip edilmiştir. SOAP çalışmasının sonuçları tanısal ve terapötik standartların ülkeler ve yoğun bakımlar arasında çok önemli farklılıklar gösterdiğini ortaya koymuştur (27).

Ülkemizde toplum kökenli sepsis insidansı konusunda yeterli veri bulunmamasıyla beraber yoğun bakım ünitesindeki nozokomiyal bakteriyemi/sepsis insidansı %7.6-15.8 arasında bildirilmektedir (28).

Hastane kaynaklı sepsisler gittikçe artan sıklıkta görülmektedir. Toplumda ileri yaş grubunun artması, kronik hastalığı olan hastaların yaşam süresinin uzaması, immünsupresif ilaçların kullanımı, teşhis veya tedavi amacıyla invaziv tekniklerin yaygın kullanılması sepsis görülme sıklığını arttırmaktadır. Sepsisin görülme sıklığı hastaneden hastaneye değişmektedir. Onkoloji, yanık / travma ve yüksek riskli bakım servislerinde hastane kaynaklı kan yoluyla geçen enfeksiyon sıklığı %1,14 ve 3.9 olarak bildirilmektedir (19).

2.1.3. ETYOLOJİ

Sepsis tablosu bakteriler, virüsler, mantarlar, parazitlerden kaynaklanabileceği gibi, travma ve pankreatit gibi nonenfeksiyöz olaylarla da gelişebilmektedir. Antibiyotikler kullanıma girmeden önce gram pozitif bakteriler en sık sepsis nedeni olan bakterilerdir. Antibiyotik döneminde ise gram negatif bakteriler gittikçe artan oranlarda sepsis etkeni olarak izole edilmeye başlanmıştır (29).

Toplum ve hastane kökenli sepsislerde bakteriler en yaygın patojenlerdir. Sepsise neden olan mikroorganizmaların türleri sepsisin hastane içi ya da dışında gelişmiş olmasına göre değişiklik gösterir (20). Toplumdan kazanılmış sepsis olgularında en sık etkenler *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Escherichia coli*'dir. Anaerob bakteriler ve mantarlar, toplumda gelişen sepsislerde daha az oranda etken olabilir. Hastane kökenli sepsis etkenleri yıllara göre değişiklik göstermiştir. Nozokomiyal sepsislerde en sık etkenler; *S.aureus*, koagülaz negatif stafilokoklar, *Enterococcus* türleri, *E. coli* ve diğer enterik bakteriler, *Pseudomonas aeruginosa* ve diğer nonfermentatif bakteriler, *Candida albicans* ve diğer kandidalardır. Anaeroplara nozokomiyal sepsislerde etken olarak izole edilmesi düşük orandadır (20).

2.1.4. PATOFİZYOLOJİ

Sepsis, etken mikroorganizma ile konağın immün, inflamatuvar ve koagülasyon cevabının etkileşmesi sonucu oluşmaktadır. Yani hem konağın cevabı hem de etken mikroorganizma sepsisten sorumludur (5).

Gram negatif bakterilerde hücre duvar komponentleri olan lipopolisakkarit yapısındaki endotoksinler, sepsisi tetikleyen moleküllerin başında gelir. Endotoksinin ortaya çıkardığı genel yanıt, pro- ve antiinflamatuvar mediatörler (sitokinler, pıhtılaşma faktörleri, adezyon molekülleri, miyokardiyal deprese edici yapılar ve ısı-şok proteinleri) ile birlikte, hem hücresel hem de humoral yanıtı kapsar (30).

Gram pozitif bakterilerde endotoksin yoktur, ancak hücre duvarında peptidoglikan ve lipoteikoik asit bulunur. Bu iki moleküler yapı hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanma yeteneğindedir ve inflamasyonu arttırıcı (proenflamatuvar) özellik gösterir. Ancak lipopolisakkaritler kadar etkin değildir. Peptidoglikan ve lipoteikoik asidin sepsis fizyopatolojisindeki etkileri henüz tam olarak anlaşılamamıştır. İlginç bir nokta da gram pozitif bakterilerin süperantijenik toksinlerinin LPS'ye olan aşırı duyarlılığı arttırmasıdır. Stafilokoksik bir toksin olan TSST-1'in, tavşanlarda LPS aşırı duyarlılığını yaklaşık 50.000 kat arttırdığı gösterilmiştir (31).

Makrofajlar, gram negatif çomaklardaki LPS gibi bakteriyel toksinler ve bu toksinlere yanıt olarak salınan proinflamatuvar sitokinler aktive olur. Portal vende LPS, LPS-bağlayıcı proteini (LBP) bağlar. LPS-LPB kompleksi karaciğer sinüzoidlerine ulaşarak makrofaj yüzeyindeki LPS reseptörü olan CD14'e bağlanır. Hücre içinde CD14 yokluğunda, LPS'ye karşı hücre sel yanıt transmembranda bulunan 'Toll-like receptor''e (TLR) bağlıdır. TLR, sitokin ve diğer mediyatörlerin sentez ve salınımına öncülük eden sinyal yollarını indükler (32). Bakteriyel ve fungal kaynaklı bir çok proteine karşı farklı TLR tanımlanmıştır. TLR-4, LPS reseptörüdür. TLR-2 esas olarak gram pozitif hücre duvar yapılarını tanıır. LPS'lerin TLR-4 ve CD14 kompleksine bağlanması ile sepsis yolağı başlamaktadır. TLR'lerin mikroorganizma epitoplarına bağlanması ile hücre içi sinyal artışı başlar. Proinflamatuvar sitokinler olan TNF alfa, IL-1, IL-6, IL-8 salınımı (IL-1 ve IL-6 aktivasyonu sonucu IL-2, IL-4 ve GM-CSF salınır) ve antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 salınımı görülür (5).

LPS yüzeyinde bulunan MSR (Macrophage scavenger receptor), CD11b-CD18 ve iyon kanallarına bağlanarak da etki göstermektedir. Ayrıca genetik mutasyonu olanlarda NOD-1 ve NOD-2 (nucleotide-binding oligomerization domain) reseptörleri aracılığıyla da bağlanma olmaktadır (31).

Mikroorganizma ve konağın ilk karşılaşmasından sonra doğal immün sistemde humoral ve hücrel immüneyi kapsayan yaygın bir aktivasyon başlar. Bu noktada mononükleer hücreler klasik pro-inflamatuvar sitokinleri salarak [IL-1, IL-6 ve TNF gibi] kilit rol oynar. TNF ve IL-1 inflamatuvar sitokinlerin prototipini oluşturur ve LPS'ye bağıli septik şok oluşmasında son derece etkilidir (33).

Pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımı ile gelişen olaylar şunlardır (5):

- a-Nötrofillerin endotel hücrelerine adezyonu artar,
- b-Nötrofillerin aktivasyonu ile mikroorganizmalar öldürüldüğü gibi endotel hasarı oluşur,
- c-Endotoksinlerin direkt etkisi ve sitokinlerin uyarımı ile ortaya çıkan tromboksan, prostoglandin ve lökotrien gibi araşidonik asit metabolitleri salınımı ve vasküler permeabilite artışı olur,
- d-Akciğerde ve diğler dokularda proteinden zengin ödem görülür,
- e-Aktive olmuş endotel hücreleri nitrik oksid sentezi yapar,

Sepsiste uyarılmış immün yanıt:

Mikroorganizmalar humoral ve hücrel yanıtı stimüle eder ve doğal bağışıklık sisteminin etkisini artırır. B hücreleri immünglobulin sentezini artırır, immünglobülinler de mikroorganizmalara bağılanır, antijen sunan hücrelerin doğal öldürücü hücrelere (natural killers-NK) antijen sunumu kolaylaştır. Nötrofiller tarafından mikroorganizmalar öldürülür. T hücre alt grupları sepsiste değışikliğe uğrar ve Th1 ve Th2 hücreleri salınır. Th1'ler genellikle TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımına neden olurlar. Th2 mikroorganizmaya, enfeksiyonun şiddetine ve diğler faktörlere bağıli olarak IL-4 ve IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinleri salgılar (5).

Sitokinler etkilerini sadece sistemik dolaşıma karışarak değıil, direkt hücre-hücre ilişkisi ile ve çok küçük konsantrasyonlarda da göstermektedir. Sepsiste makrofaj, endotel ve epitel hücrelerinin lipopolisakkarit veya metillenmemiş CpG

DNA fragmanları gibi bakteriyel ürünleri spesifik reseptörleriyle tanımasını sitokin kaskadının tetiklenmesiyle ve TNF- α , IL-1, IL-12, IL-18, IFN γ , IL-6 ve IL-8 gibi sitokinlerin salınmasıyla sonuçlanır (34).

Sitokinler arasındaki sinerjistik etkileşimler doku zedelenmesine yol açabilir. Mikrobiyal toksin gibi bir enfeksiyöz ya da enflamatuvar uyaran makrofajları uyarır ve fazla miktarlarda TNF α , IL-1, IL-6 salınımına yol açar (35). TNF- α sepsis patofizyolojisinde en önemli rolü olan erken dönemde salgılanan bir sitokindir. TNF- α aracılığı ile olan doku hasarı nötrofiller tarafından sağlanır. Nötrofillerden elastaz, süperoksidin, hidrojen peroksid, PAF, LTB₄, TXA₂, IL1, prostoglandin, elastaz, kollojenaz salınımını ve sentezini uyarır, nötrofillerin transendotelial migrasyonunu sağlar, endotelial mikrovasküler hücreleri aktive eder, PAF ve IL-8 salgılanır. Sitokinlerin (örneğin TNF- α , IL-1), sitokin reseptörlerinin (örneğin TNF reseptörleri, IL-1 reseptörleri) ve TLR'lerin genlerindeki polimorfizmlerin veya mutasyonların, konağın enfeksiyona cevabını değiştirebileceği, sepsisin şiddeti ve mortalitesi ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (17,36). IL-6'nın rolü tartışmalıdır. Bazı yazarlar IL-6'yı antienflamatuvar sitokin olarak kabul eder, ancak IL-6 nötrofillerden elastaz salınımını artırarak nötrofillerin sitotoksik potansiyellerini artırır. IL-6 salınımı, TNF ile azaltılır. IL-6 diğer sitokinlerle beraber salındığında toksik olmaktadır. IL-8 nötrofil kemotaktik bir sitokin olup, doku enflamasyonunda yer almaktadır (37).

Pıhtılaşma kaskadı:

Sepsiste önemli bir konu da prokoagülan faktörlerde artış ve antikoagülan faktörlerde azalma ile birlikte prokoagülan-antikoagülan değerlerindeki değişikliklerdir. Lipopolisakkarit endotel hücrelerini aktive edip, doku faktörünü düzenleyerek koagülasyonu aktive eder. Fibrinojen fibrine dönüşür ve bu da mikrovasküler trombus oluşumunu artırarak daha fazla hasara yol açar (5,36).

Sepsis; protein-C, protein- S, antitrombin III ve doku faktör yolu inhibitör miktarını düşürür. Lipopolisakkarit ve TNF- α , protein-C reseptör sentezini azaltır, protein-C aktivasyonunu bozar ve plazminojen aktivatör inhibitör-I sentezini artırır ve böylece fibrinolizisi bozar (38).

Sepsiste doku faktörünün ve plazminojen aktivatör inhibitör-I'in açığa çıkmasıyla oluşan hipoksi ve iskemi yoluyla proinflamatuvar ve prokoagülan yanıt artar (5).

Protein C:

Tromboz ve pıhtılaşma kaskadına karşı organizmanın en önemli endojen savunma mekanizmalarından biri protein C'dir. Protein C, trombin ile trombomodulinin kompleks oluşturması sonucu vitamin K bağımlı bir genin proteaz fonksiyonu aracılığı ile aktive protein C'ye (APC) çevrilir (39-41). Protein C aktive edildiği zaman kofaktörü olan protein S ile birlikte antikoagülan, antiinflamatuvar ve fibrinolitik etki gösterir (32,42). Sepsisli hastalarda, endotel üzerinde bulunan trombomodulinin ve buna bağlı olarak da APC oluşumunun, plazma protein C ve S düzeylerinin belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir (42,43).

Nitrik oksit (NO) oluşumu:

Septik şok sırasında endotel tarafından aşırı NO yapılması, vazodilatasyon, trombosit agregasyonu inhibisyonu, düz kas hücre proliferasyonu inhibisyonu ve endotel tarafından proinflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunun azalması ile sonuçlanır. Bütün bunlara bağlı olarak, hipotansiyon, kardiyak depresyon ve vasküler hiporeaktivite meydana gelir (5,30).

Bireysel duyarlılık:

Genetik faktörlerin de sepsiste önemli olabileceği gösterilmiştir. Nozokomiyal sepsislerde NOD-2 mutasyonu bağımsız risk faktörlerindedir (31).

Sepsis patogenezinde etkili olan mediatörler ve etkileri tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo II: Sepsis fizyopatolojisinde etkili makrofaj kaynaklı ürünler (33).

Mediatörler	Temel etkileri
Sitokinler;IL-1,IL-6, IL-12, IL-15, IL-18, TNF, MIF, HMGB, IL-10	-Nötrofil, lenfositler ve vasküler endotelin aktivasyonu; -hücresele adezyon moleküllerinin aktivasyonu, -prostoglandinlerin indüksiyonu, -nitrik oksit sentetaz ve akut faz proteinlerinin aktivasyonu, -ateş (IL-10 bu etkilerin hepsini engelleyici bir etkiye sahiptir)
Kemokinler;IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1,MCP-3	-Özellikle nötrofillerin harekete geçirilmesi ve aktivasyonu, -makrofajların aktivasyonu
Lipid mediatörleri; PAF, prostoglandinler, lökotrienler, tromboksan,doku faktörleri	-Vasküler endotelin aktivasyonu, -vasküler tonusun düzenlenmesi, -ekstremsel koagülasyon kaskadının aktivasyonu
Oksijen radikalleri; süperoksit ve hidroksil radikaller, nitrik oksit	-Antimikrobiyal etkiler

HMGB:Yüksek mobilize grup B,
MCP:Makrofaj kemotaktik protein,
MIF: Migrasyon inhibitör faktör,
MIP: Makrofaj inflamatuvar protein,
PAF: Platelet aktive edici faktör

Sepsis ve Apoptoz:

Ağır sepsis/septik Şok patogenezinde, apoptoz yoluyla hũcre ۆlũmũnũn ۆnemli rol oynadığına dair bulgular giderek artmaktadır (39). Deneysel sepsis modellerinde, LPS ve TNF- α gibi pek çok proinflamatuvar mediatۆrũn, endotel ve diğer çeşitli hũcre tiplerinde apoptoza neden olduğu gۆsterilmiŐtir. Ayrıca oklu organ yetmezliği nedeniyle kaybedilen hastalarda, lenfositler ve intestinal epitel hũcrelerinde yaygın apoptoz olduğu bildirilmiştir (44,45).

Bağışıklık sistemi hũcrelerinin kaybı ile beraber apoptozun artmış olmasının sepsis sırasında ve travma sonrasında immũnsũpresyonun geliŐiminde rol oynadığı dũŐũnũlmektedir (32).

Sonuç olarak, sepsis seyrinde enfeksiyonun kendisinden çok, inflamatuvar yanıtlar daha bũyũk problem gibi gۆrũnmektedir. Ancak, sepsis patogenezinin karmaŐık olması, tek bir hedefe yۆnelik tedavi giriŐimlerinin baŐarısız olmasına neden olmuŐtur (46).

Septik bir hastada bağışıklık ve enflamatuvar olayların daha doğru ve kesin olarak belirlenmesinin, sepsis tedavisinde geliŐtirilecek tedavi stratejilerinde yol gۆsterici olacağı dũŐũnũlmektedir (42).

2.1.5. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR

Sepsiste klinik bulgular hastalığın evresine gۆre deđiŐkenlik gۆsterir. Ani baŐlayan ateş, ũŐũme-titrete, taşikardi, takipne, mental durum değişikliği hipotansiyon gelişen ve lokalize enfeksiyonu olan hastalarda sepsis kolaylıkla Őũphelenilen bir durumdur. Bu belirti ve bulguları olan hastalarda sũratle kan ve enfeksiyon odağından kũltũrler alınmalı, hemen uygun tedaviye başlanmalıdır (17,18,20).

SIRS'na, sistemik bakteriyel bir enfeksiyonun neden olduğunu düşündüren belirti ve bulgular iki grupta incelenebilir (1,19,20).

1. Primer belirti ve bulgular: Ateş veya hipotermi, üşüme ve titreme, hiperventilasyon, taşikardi, deri lezyonları, mental durum değişikliği

2. Komplikasyonlar: Hipotansiyon, kanama, lökopeni, trombositopeni, organ yetmezliği: Akciğer (siyanoz, asidoz), böbrek (oligüri, anüri, asidoz), karaciğer (ikter), kalp (konjestif kalp yetmezliği)

Sepsisli hastaların büyük çoğunluğunda vücut sıcaklığı yükselir. Ateş ile birlikte titreme de gözlenir. Bazı hastalarda hipotermi olabilir ve genellikle yenidoğan, yaşlı, üremik ve alkolik şahıslarda görülür. Hipotermi, sepsiste kötü prognozun bir işareti olarak yorumlanmaktadır (47,48). Nötropenik ve immunosüpressif hastalar sistemik enfeksiyona yatkındırlar ve bu hastalarda ateş görülmeden sepsis gelişebilir (49). Hipotansiyon, oligüri, trombositopeni ve kanamanın gözlenmesi, bu hastaların sepsis yönünden değerlendirilmesini gerektirir (50).

Yoğun bakım ünitelerinde devamlı izlenen hastalarda, hiperventilasyon ve respiratuvar alkaloz gözlenmesi sepsisi ilk planda düşündürmelidir (51). Santral sinir sistemi tutulumu olmaksızın mental durum değişikliklerin olması sepsiste önemli bir bulgudur. Oryantasyon bozukluğu, konfüzyon, letarji, ajitasyon ve şuurda bulunma şeklinde klinik tablo ortaya çıkabilir (48,49,51).

Stafilokok ve streptokok sepsislerinde deride metastatik enfeksiyonlar ve sellülit sıklıkla gözlenir. Sellülit dışında, pirojenik veya eritrojenik toksinlerin etkisine bağlı eritrodermi de oluşabilir. Gram negatif bakteriyel sepsislerde ektima, hemorajik veziküller veya büllöz lezyonlar, sellülit, erizipele benzer deri lezyonları veya peteşiyel deri lezyonları görülebilir (52,53).

Sepsis en önemli etkilerini kardiyovasküler sistem üzerinde yapmaktadır. Sepsisin erken döneminde kardiyak output artar, periferik damar direnci azalır ve arteriyel kan basıncında düşme olur. Bu erken hiperdinamik fazda periferik vazodilatasyon vardır, fakat perfüzyon çok fazla bozulmaz. Bu dönemi şok takip eder. Sepsisli hastalarda sistolik kan basıncının 90 mmHg'nın altına düşmesi, klinik olarak şok kabul edilmektedir. Hastalarda hipotansiyon, taşikardi, takipne ve periferik vazodilatasyon gözlenir. Deri sıcaktır (Sıcak Şok). Şokun uzaması ile periferik vazokonstriksiyon gelişir. Organ perfüzyon bozukluğuna bağlı belirtiler ortaya çıkar; anüri gelişir, deri soluk ve soğuktur (Soğuk Şok). Tedavi edilmeyen ya da tedaviye yanıt vermeyen olgularda organ yetmezliği ve ölüm bunu takip eder (54)

Sepsiste solunum sistemi bulguları sık olarak saptanır. Pnömoniye izleyen sepsislerde primer enfeksiyona ait akciğer lezyonları görülür. Bakteremi sonucu da pnömöni gelişebilir. Ancak en sık görülen bulgu Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS)'dir (19,48). ARDS klinik olarak hipoksi, hiperkapni, solunum sıkıntısı ve siyanozla karakterizedir. Solunum kaslarında da bir yetersizlik vardır. Akciğer grafilerinde yaygın bilateral infiltratlar izlenir (52).

Sepsiste oligüri sık rastlanan belirtilerden biridir (52). Genellikle hipotansiyona eşlik eder. Hastanın şoka girmesi ile anüriye kadar giden böbrek fonksiyon değişiklikleri görülür. Hastalar saatte 20 ml'den az idrar çıkarır. Renal yetmezlik hipoperfüzyona bağlıdır. Bazen immün kompleks glomerülonefriti de görülebilir. Bazen septik şok gelişmeden de hastalarda, glomerülonefrit veya interstisyel nefrit sonucu akut veya subakut böbrek yetmezliği gelişebilir. Bakteriyel endokardit, ventriküloatriyal şant enfeksiyonu, piyojenik organ enfeksiyonları ve vücudun herhangi bir yerinde enfeksiyon odağı varlığında glomerüler orijinli böbrek yetmezliği gelişebilir (19,20).

Sepsis en sık akut dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) nedenidir (38,50). Trombositopeni, intravasküler trombin oluşumu, fibrin birikimi, pıhtılaşma faktörlerinde azalma ve fibrinoliz ile karakterizedir. Deri ve

mukozalarda peteşi ve purpura, hemorajik büller, akrosiyanoz ve bazen de gangrenler görülebilir (38). Cerrahi veya travmaya bağlı yarası olan hastalarda yara yerinde kanama, damardan injeksiyon yerlerinden ve intraarteriyel kateter yerlerinden sızıntı, büyük derialtı hematomlar ve derin doku içine kanamalar sık görülür. Uzayan Şok, DIC tablosunu aėırlaŐtırır. DIC, hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakteriyel sepsislerde görülür, fakat gram negatif sepsislerde görülme sıklığı daha fazladır (19,20,50).

Hepatik yetmezlik hipoperfüzyona bağlı olarak gelişir; intrahepatik kolestaz ve minimal hepatosellüler nekroz saptanır. Hiperbilirubinemiye bağlı sarılık görülebilir (52,55,56).

Sepsisteki diğer bulgular Şok ve organ yetmezliği ile ilgili bulgulardır. Sepsiste görülen en önemli komplikasyonlarından biri de organ yetmezlikleridir. Yetmezlik yönünden risk altında olan organlar kardiyovasküler sistem, akciğerler, böbrekler, karaciğer, pankreas, GIS, metabolik bozukluklar, koagülasyon sistemi ve SSS'dir (19,20).

Diyabetli hastalarda diyabetin regülasyonunun bozulması ve hiperglisemi enfeksiyonun en önemli ipucu olabilir (19,20).

2.1.6. TANI:

Hematolojik bulgu olarak lökositoz ya da lökopeni olması beklenir. Periferik yayma incelemesinde beyaz küre sayısı normal olsa bile nötrofillerin toksik granülasyonu bakteriyel enfeksiyonu gösterebilir. Lökopeni kötü bir prognostik bulgudur. Düşük platelet sayısı, DIC ve mikroanjiopatik hemolizin göstergesi olabilir (19,49). DIC'da protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) uzar. Fibrinoliz görülür ve fibrinojen azalır (19,20,49).

Sepsiste renal fonksiyonların yakından izlenmesi esastır. Renal disfonksiyona bağlı başlangıçta azotemi gözlenirken, akut renal yetmezlik tabloya eklendiğinde oligüri veya anüri birlikte kreatinin seviyeleri artmaya başlar (19). Artan potasyum miktarı rabdomiyolizi gösterebilir, bu durumda bazen şiddetli sepsis nedeni olabilir (19,49). Bakteriyemi ve sepsisli hastalarda bilirubin, alkalen fosfataz ve transaminaz seviyeleri normalin iki, üç katına kadar yükselebilir. Daha yüksek enzim değerleri altta yatan hepatik veya bilier kanal enfeksiyonunu gösterebilir. Giderek kötüleşen karaciğer fonksiyonları ise şiddetli sepsis komplikasyonu olan akalküloz kolesistit ve hepatosellüler hasarın göstergesi olabilir (49).

Sepsis ve septik şokun erken döneminde hiperglisemi görülür ve sonraki dönemlerde ise hipoglisemi olur (19). Doku hipoksisinin şiddetiyle orantılı olarak plazma laktat seviyesi, üç ile beş kata kadar yükselebilir. Sepsisli hastalarda endotel hasarı ve kapiller protein sızması sonucu 24 saat içinde plazma albümin düzeyi 1.5- 2.0 g/dl düzeyine kadar düşebilir (49).

Erken dönemde respiratuar alkaloz, geç dönemde ise metabolik asidoz gelişir. Asidozun derecesi, şiddetli hastalığın bir göstergesi olarak değerlendirilir (49).

Akut faz reaktanlarından inflamasyon varlığında karaciğer hücrelerinde akut faz reaktanları olarak bilinen proteinler (CRP, fibrinojen, fibronektin, serum mukoproteinleri, kompleman komponentleri, transferin) sentezlenir. CRP ortalama 4-6 saat sonra salgılanması başlar ve pik değerine 36-50 saatte ulaşır. Travma, cerrahi girişim gibi tek bir uyarandan sonra yükselen CRP günler sonra normal seviyelerine iner. Sepsis tanısında duyarlılık %68-98,5 arasında, özgüllük %40-78 arasında bulunmuş, tek bir ölçümle sepsis tanısı konmasında güvenilir bir parametre olmadığı ve sepsis prognozu konusunda da yeterli bilgi vermediği sonucuna varılmıştır. Geç dönemde gerçekleşen artışı nedeniyle sepsis gibi çok dinamik bir süreçte faydalı olmayacağı, sepsis dışı birçok nedende yükselebilmesi nedeniyle özellikle YBÜ hastalarında çok faydalı bir sepsis tanı testi olarak

kullanılmayacağı sonucuna ulaşılmıştır. Prokalsitonin (PCT), normalde tiroid C hücrelerinden salgılanan kalsitoninin propeptididir. Bakteriyel lipopolisakkarid uyarısı ile mononükleer hücrelerden ve TNF- α , IL-6 uyarısı ile karaciğer hücrelerinden sentezlendiği sanılmaktadır. Uyarıdan 3-4 saat sonra artış başlar ve pik değere yaklaşık 6 saatte ulaşır. Yarılanma ömrü, 25-30 saattir. Böbrek yetmezliğinde bu süre %30 kadar uzamaktadır. Viral enfeksiyonlar, enflamatuar olaylar ve lokalize bakteriyel enfeksiyonlar hafif artışa yol açarken sistemik bakteriyel enfeksiyonda miktarında ciddi artış olduğu saptanmıştır (57). Sepsis ile SIRS ayırıcı tanısında prokalsitonin duyarlılığı %85, özgüllüğü %91 olarak bulunmuştur (58).

Mikrobiyoloji:

Sepsisin etyolojik tanısı primer enfeksiyon odağından ve kandan yapılan kültürlerle konur. İdeali kültürlerin antibiyotik tedavisinden önce alınmasıdır. Kan kültürü mikrobiyolojik inceleme için çok önemlidir. En az iki ya da üç set kültür alınmalıdır (toplam 20-30 ml kan). Fungal enfeksiyon için yüksek riskli hastalarda özel besiyerleri kullanılmalıdır (11,59). Bütün hastalardan, varsa balgam ve idrarın mikroskopik incelemesi yapılmalıdır. Tüm yaralardan ve steril vücut sıvılarından (serebrospinal sıvı, eklem, plevra sıvısı vb.) kültür alınmalıdır. Hastanın klinik gidişine göre gerekirse kültürler tekrar edilmelidir (60-62).

Radyoloji :

Tüm olgularda akciğer grafisi çekilmelidir. Özellikle apselerin saptanmasında ultrasonografi ve bilgisayarlı tomografi genellikle gereklidir. Enfeksiyonun kesin odağının tespitinde nükleer tıp yöntemlerinden yararlanılabilir (49).

2.1.7. TEDAVİ:

Sepsis tedavisinde temel ilkeler antimikrobiyal tedavi ve enfeksiyon odağının ortadan kaldırılması, hemodinamik destek tedavisi (sıvı, inotropik-vazopressör ajanlar), oksijenizasyonun sağlanması ve solunum destek tedavisi, metabolik destek ve beslenme, farmakolojik tedavi, altta yatan hastalığın ortadan kaldırılması veya düzeltilmesi ve organ disfonksiyonuna yönelik destek tedavileridir (17,63,64).

a) Destek Tedavisi: Destek tedavisi yoğun bakım ünitesinde verilmelidir ve oksijenlenme, ventilasyon, kan basıncı ve doku perfüzyonunun normale döndürülmesi hedeflenmelidir. Hedefe ulaşmanın temeli vazopressör ajanlarla destek tedavisi eşliğinde agresif sıvı resüsitasyonudur (65,66).

b) Antimikrobiyal tedavi: Sepsisli hastalarda, antimikrobiyal tedavi seçiminde; olası enfeksiyon odağı ve bu odakta en sık enfeksiyona neden olabilecek patojenlerin bilinmesi gerekmektedir. Primer enfeksiyon odağının belirlenmesi hem farmakolojik hem de farmakolojik olmayan tedavi stratejilerinin seçilmesinde ve klinik sonucun başarısında son derece önemlidir. Sepsisli olgularda optimal bir antimikrobiyal tedavi protokolünden söz etmek güçtür (67).

Kültür ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinin sonuçlanması zaman gerektirdiği için başlangıçtaki antibiyotik seçimi genellikle ampirik olmaktadır. Ampirik tedavide enfeksiyonun şiddeti, geliştiği yer (toplum kökenli veya nozokomial), primer enfeksiyon odağı, olası etkenler, etken veya etkenlerin lokal veya genel antibiyotik duyarlılık sonuçları, konak-ilişkili faktörler (yaş, altta yatan hastalık, organ fonksiyonları, yattığı klinik, uygulanan girişimler, daha önce kullandığı antibiyotikler vb.) dikkate alınmalıdır (68).

Etken patojen veya patojenlerin belirlenemediği durumlarda ve vazopressör gereksinimi olan septik hastalarda genel olarak kabul edilen yaklaşım, başlangıçta geniş spektrumlu antimikrobiyal tedavinin başlanmasıdır.

Mikrobiyolojik veriler elde edildiğinde antimikrobiyal tedavi spektrumunu daraltarak daha uygun bir tedavi şeklini seçmek olasıdır (69).

Sepsiste başlangıç antimikrobiyal tedavinin monoterapi mi, kombine tedavi mi olması gerektiği konusu halen tartışmalıdır. Kombine tedavinin önemli üstünlükleri antibakteriyel spektrumun genişletilmesi, sinerjistik aktivite elde edilmesi ve direnç gelişmesinin azaltılmasıdır. Dezavantajları ise süperenfeksiyon riski, maliyet ve ilaç yan etkilerinin görülme sıklığındaki artıştır. Monoterapide ilaç toksisitesi daha az görülür ve daha ekonomik bir tedavi şeklidir (68,70).

Son yıllarda gram pozitif mikroorganizmalara bağlı sepsis insidansının artması ampirik tedavide glikopeptidlerin kullanımı konusunda tartışmalara yol açmıştır. Vankomisin bilinen ve şüpheli kateter enfeksiyonuna bağlı sepsislerde veya metisilin direncinin yüksek olduğu (>%15-20) ünitelerdeki *S.aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde önerilmektedir. Ağır sepsis ve septik şoklu hastalarda antifungal ajanların başlangıçta ampirik kullanımı ise önerilmemektedir (20,67).

Sepsiste kesin bir tedavi süresi vermek olası değildir. Tedavi süresi özel bir gerekçe olmadıkça iki haftadan uzun olmamalıdır. Süre vital bulgular ve bakteriyel eradikasyon gibi kriterler ile birlikte, özellikle YBÜ'lerde izlenen hastalarda klinik tablonun ağırlığı, organ disfonksiyonlarının varlığı ve cerrahi girişim gereksiniminin olup olmadığına göre değerlendirilir (20).

c) Aktive protein C tedavisi: Aktive edilmiş Protein C ile tedavinin şiddetli sepsis hastalarında ölüm oranını azalttığı ve organ disfonksiyonunu düzelttiği rapor edilmiştir. Aktive edilmiş Protein C'nin; ağır sepsisli ve yüksek ölüm riski taşıyan hastalarda (APACHE II skoru ≥ 25 veya, 2 veya daha fazla organın disfonksiyonu) uygulanmasına onay verilmektedir. Bu tür hastalarda ölüm oranını %13 oranında azalttığı gösterilmiştir (5). Pediatrik sepsisli hastalarda rekombinant human aktive protein C (rhAPC) araştırması 399 hastadan sonra yararsız olduğu

için durdurulmuştur (70). Kanama riskini artırdığı ve etkinliğinin kanıtı yetersiz olduğu için çocuklarda rhAPC önerilmemektedir (71).

d) Deneysel tedaviler: Sepsisteki deneysel tedaviler kademeli inflamatuvar olaylar dizisini (nötrofil, lenfositler ve vasküler endotelin aktivasyonu, hücrel adezyon moleküllerinin aktivasyonu, prostoglandinlerin indüksiyonu, nitrik oksit sentetaz ve akut faz proteinlerinin aktivasyonu vb.) kesmeyi amaçlar. Bugün için böyle tedaviler sepsiste standart tedavinin bir parçası haline gelmemiştir, fakat gelişme döneminin çeşitli fazlarında çok sayıda tedavi stratejisi mevcuttur. Tablo 3' de bu tedaviler gösterilmiştir (72).

e) Kan şekeri kontrolü: Hiperglisemi ve insülin direnci sepsiste genel bir durumdur. Hiperglisemi potansiyel olarak zararlı bir durumdur (apoptozu indükler, yara iyileşmesini geciktirir, mortaliteyi artırır...). Son yıllardaki veriler hipergliseminin proinflamatuvar yanıtı potansiyelize ettiğini, insülinin ise bunun tam tersi bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Birçok çalışma, iyi glikoz kontrolünün kritik hastaların prognozunu olumlu etkilediğini göstermektedir (73,74).

Son yıllarda beş önemli gelişme sepsiste prognozu önemli ölçüde iyileştirmiştir (75).

1. Erken hedefe yönelik tedavi
2. Aktive protein C tedavisi
3. Kortikosteroid ve mineralokortikoid tedavisi
4. Hiperglisemide yoğun insülin tedavisi
5. Mekanik ventilasyon tedavisi altındaki hastalarda düşük tidal volüm, yüksek pozitif ekspirum sonu basınç (PEEP) uygulanması.

Tablo III. Sepsisin inflamatuvar mediyatörlerinin bloke edilmesi için potansiyel tedaviler (72).

- a) Glukokortikoidler
- b) Antiendotoksin monoklanal antikorlar
- c) IL-1 reseptör antagonistleri
- d) PAF antagonistleri
- e) Bradikinin antagonistleri
- f) NSAİD
- g) Anti-TNF antikor
- h) TNF reseptör füzyon proteinleri
- i) NO sentetaz blokajı
- i) Anti-ICAM antikorlar
- j) IL-10
- k) Anti IL-6 antikorları
- l) Lipid A ile yarışan antagonistler
- m) Anti-LPS bağlayıcı protein antikorları
- n) Hemofiltrasyon / plazma değişimi

2.2. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Stafilokoklar, *Micrococcaceae* familyasında yer alan 0,5- 1,5 µm çapında, düzensiz kümeler, bazen dördlü, ikişerli kok ya da tek tek koklar şeklinde görülen gram pozitif bakterilerdir (76).

2.2.1. MİKROBİYOLOJİ

S. aureus, *Staphylococcus* cinsi içinde yer alan gram pozitif koktur. Stafilokoklar sporsuz, hareketsiz, 0,5-1,7 µm çapında genellikle üzüm salkımı şeklinde görülen bakterilerdir (77). Fakültatif anaerop bakterilerdir ve yüksek tuz içeren ortamlarda ve basit besiyerlerinde üreyebilirler (78). Katı besiyerinde 18-24 saat içinde beyaz altın sarısı pigmentli, 1-3 mm çaplı S koloni oluşturur. Bazı

kökenlerin kolonilerinde varolan krem renginden altın sarısına kadar değişebilen pigmentasyon karotenoidlere bağlıdır. Stafilokoklar koyun, insan veya at kanlı agarda beta-hemoliz oluşturabilir ve hemoliz uzun süreli inkübasyonlarda daha belirgin hale gelebilir. Katalaz pozitifdir, oksidaz negatiftir. Lizostafine ve furazolidona duyarlıdır, basitrasine ise dirençlidir. Anaerop ortamda glikozdan ve eritromisin varlığında gliserolden asit oluşturabilir. *S. aureus* ise koagülaz testi pozitif, mannitol fermentasyonu pozitif, deoksiribonükleaz testi pozitif, novobiyosine duyarlı ve anaerop ortamda üreyebilen bir bakteridir (79).

2.2.2. YAPI

Stafilokoklar sıklıkla gevsek bir polisakkarit kapsül ile çevrelenmiştir. Bu kapsül serotiplerin tanımlanmasında kullanılmaktadır. *S. aureus*'ta 11 kapsüller serotip tanımlanmıştır (80). Serotip 5 ve 8 insan enfeksiyonlarının yaklaşık %75'inden sorumludur. Serotip 5'in metisiline direnci yakın ilişkide oldukları gösterilmiştir (79). *S. aureus*, enfeksiyon etkeni olarak ilk izolasyonda yüksek düzeyde polisakkarit kapsül bulundurur, fakat laboratuvardaki subkültürlerde bu polisakkarit kapsül hızla kaybolur. Kapsül fagositozu engelleyerek *S. aureus*'un invaziv karakterine katkıda bulunur, konak hücrelerine ve özellikle de kateter gibi yabancı cisimlere adherensi sağlar (76,79).

2.2.3. PATOGENEZ

S. aureus'un hücre duvarının %50'si sitokin salınımını uyaran, kompleman aktivasyonuna yol açan peptidoglikan tabakadan oluşmaktadır. Teikoik asit stafilokokların hücre duvarında yer alır ve konağa adherensi sağlar. Birçok *S. aureus* kökeninde bakteriyi fagositozdan koruyan bir mikrokapsül bulunmaktadır.

Protein A, elastin, kollajen ve fibronektin bağlayan proteinler ve "clumping" faktör stafilokoksik yüzey proteinleridir. Bu proteinler konak dokulara kolonize olmasında önemli bir faktördür (91). *S. aureus* konak hücre morfolojisini veya fonksiyonunu etkileyen çok sayıda ekstrasellüler toksin üretebilir. Bunlardan bir kısmı enzimatik aktivite gösterirken, bir kısmı

süperantijen özellikleri nedeniyle sitokin salınımını indükler. Ayrıca bu toksinler yoğun inflamatuvar yanıt olan bölgelerde bile üremelerini sağlayabilir. Alfa-toksin, beta-toksin, gama ve delta toksin, lökositin, epidermolitik (eksfolyatin) toksinler, enterotoksin, toksik şok sendromu toksini *S. aureus*'ta bulunan toksinlerdir (80). Stafilocoklar lipaz, hyalüronidaz (yayılma faktörü), stafilokinaz, penisilinaz, katalaz, koagülaz ve deoksiribonükleaz gibi birçok enzim salarak komşu dokulara yayılımı kolaylaştırırlar (76,77).

2.2.4. YAPTIĞI HASTALIKLAR

Stafilocoklar doğada yaygın olarak bulunan ve başta burun mukozası, nazofarinks, deri ve daha az olmakla birlikte bağırsak ve diğer mukozaların normal floralarında bulunan bakterilerdir. Stafilocokların konakla benign veya simbiyotik ilişkileri vardır. İnsanlarda, endojen ve ekzojen kaynaklı çok çeşitli nedenler, besin zehirlenmeleri ve travma neticesinde lokal ya da genel doku hasarlanması sonrasında enfeksiyon ve sepsise varacak kadar çeşitli hastalıklar oluşturabilirler (81).

S. aureus'un oluşturduğu enfeksiyonları deri, mukoza, yumuşak doku enfeksiyonları, bakteriyemi ve endokarditler, toksinleriyle oluşan hastalıklar ve organ enfeksiyonları olmak üzere dört grupta incelemek mümkündür (82).

2.2.5. TANI

Stafilocokların mikrobiyolojik incelemesinde yayma, kültür ve serolojik yöntemlerden yararlanılır. Sürüntü, irin, kan, trakeal aspirat, spinal sıvı vb. örneklerden izole edilebilir (83). Çoğu stafilocokal lezyon bol miktarda PMNL ve *S.aureus* içerir (84). İrin veya balgam yaymasında tipik stafilocoklar görülür. Saprofitleri patojenlerden yayma ile ayırmak mümkün değildir. Stafilocoklar aerobik olarak kanlı agarda tipik 2 mm ve daha büyük çaplı koloniler oluşturarak 37°C'de bir gecelik inkübasyonda ürer. Kültür sonuçlarının yorumlanması

kolonizasyon ile enfeksiyon ayrımını yapmaya ihtiyaç olduğundan karmaşıktır. Hem *S.aureus* hem de *S.epidermidis* normal floranın bir parçası olabilir (83).

Kültür vasatında üreyen bakterilerin identifikasyonunda bazı testler kullanılır:

Katalaz Testi: Bir damla hidrojen peroksit düz bir zemine konur. Üreyen bakteriden küçük bir miktar alınarak bu solüsyona katılır. Kabarcıkların oluşması testin pozitif olduğunu gösterir (83).

Koagülaz Testi: Sitratlı insan veya tavşan plazması ile kültürde üreyen kolonilerden alınan bir miktar örnek karıştırılır, 37°C'de bekletilir, 1-4 saatte pıhtılaşır test pozitifdir. Tüm koagülaz pozitif stafilokoklar insanlar için patojenik kabul edilir (83).

Antimikrobik Duyarlılığı: Klinik olarak anlamlı izolatlar için mikrodilüsyon veya disk difüzyon duyarlılık testleri kullanılır (85,86). Antimikrobik duyarlılık testleri sonucu penisilin G' ye direnç, beta- laktamaz pozitifliğini düşündürür. *S.aureus*'un %90'ı beta-laktamaz üretir. Metisiline direnç mecA geninin varlığı ile ilişkilidir. Bu gen PBP'yi kodlar ve semisentetik penisilinlerden etkilenmez (83).

Serolojik Testler:

S.aureus'u diğer stafilokok türlerinden ayırt etmek için birçok laboratuvar hızı metotlar kullanılır (84):

1-Slide koagülaz faktör reaksiyonu

2-Lateks aglütinasyon testi

Endokardit ve osteomyelit gibi derin stafilokokal enfeksiyonlarda mikrobiyolojik örnek almak zordur. Bu hastalarda *S.aureus* enfeksiyonlarının tanısında serolojik yöntemlerden yararlanılabilir. Hemolizin, nükleaz ve hücre duvarı - ribitol - teikoik asit gibi stafilokokal ürünlere karşı antikolar çeşitli immünolojik teknikler ile araştırılabilir. Antikolar, hastalığın başlangıcından

itibaren iki haftada gelişir. Ancak, derin stafilokokal enfeksiyonu olmayan birçok kimsede de bu antikorlar bulunabilir. Enfekte olan ile olmayan kişiler hemen hemen aynı antikor titrelerine sahip olabilir. Sonuç olarak bu testler düşük prediktif değere sahiptir ve maliyet etkin değildir. Tanıya yardımcı olabilir fakat, sonuçlar dikkatle yorumlanmalıdır (8,84).

2.2.6. TEDAVİ

Antimikrobiyal tedavi alanındaki ilerlemelere rağmen ağır stafilokok enfeksiyonları klinikte hala önemli bir sorun oluşturmaya devam etmektedir. Penisiline direnç yaygındır ve metisiline dirençli stafilokoklar pek çok hastanede güçlük yaratan birer nozokomiyal patojen haline gelmiştir (87). *S. aureus*'da metisiline direncin yanı sıra kinolon, makrolid, kloramfenikol, tetrasiklin, kotrimoksazol, aminoglikozidler, rifampisin gibi birçok ajana karşı çoklu direnç olması tedavi güçlüğüne neden olmaktadır (88)

Stafilokoksik bakteriyemili olgularda optimal tedavi süresi için dikkatli bir klinik değerlendirmeye gereksinim vardır. *S. aureus* bakteriyemisinde komplikasyon yoksa genellikle kısa süreli tedavi yeterlidir (89). Endokardit, osteomyelit gibi komplikasyonların geliştiği durumlarda parenteral antibiyotik tedavisi süresi dört ile altı hafta olmalıdır. Cerrahi girişim endikasyonları için hastaların dikkatli bir gözlem altında tutulmaları gerekir (90).

S.aureus enfeksiyonlarından korunma amacıyla şu an için en etkili yöntem başta el yıkama olmak üzere enfeksiyon kontrolünün temel prensiplerine uyulmasıdır (76).

2.3. BETA- GLUKAN

Beta-glukan, ekmek mayasında, tahılda ve mantarlarda bulunan, hücre duvarının yapısında yer alan fiber formda bir polisakkarittir (91). Doğal mayada ve mantarlarda temel olarak beta-1,3 glukan veya beta-1,6 glukan olarak bulunur. Glukan 6,5 kD moleküler ağırlığa sahip, zimosandan elde edilen bir beta-1,3 linked glukopironaz polisakkarittir ve makrofaj/monosit hücre serilerinin potent aktivatörü ve retikuloendotelyal sistemde pek çok stimulator etkiden sorumlu olduğu gösterilmiştir (92). Ticari olarak kullanılan beta-glukan ekstresi genellikle ekmek mayasından yani "*Saccharomyces cerevisiae*" ' den elde edilir. Pillemer ve Ecker "zimosan" adı verilen ve "*Saccharomyces cerevisiae*" duvarından elde edilen beta-glukanın deneysel olarak hayvanlara uygulandığında retikuloendotelyal sistemde hiperplazi ve hiperfonksiyona neden olduğunu göstermişlerdir. Bunun dışında *Phellinus linteus* veya *Sparassis crispa* gibi mantarlardan elde edilen pek çok beta-glukan preperatı mevcuttur (93).

Değişik moleküler ağırlıklara ve kimyasal varyasyonlara bağlı olarak etkilerinin değişik düzeylerde olduğu bildirilmekle birlikte, beta glukanın temel etkileri şu şekilde sıralanabilir:

- 1- Immunmodülasyon
- 2- Antikarsinojenik etkiler
- 3- Lipid düşürücü etkiler
- 4- Kan şekeri düşürücü etkiler

Beta-glukan in vivo uygulanması ile çeşitli enfeksiyonlara ve tümör gelişimine karşı konak yanıtında bir artış bildirilmiştir (94). Bunun üzerine yapılan pek çok klinik çalışmada tümör immünoterapisi ve cerrahi sonrası enfeksiyonların önlenmesinde beta-glukan olumlu sonuçlar vermiştir. Breivik ve ark. solubl beta 1,3/1,6 glukanın Wistar ratlarında deneysel olarak oluşturulan periodontal hastalığı engellediğini göstermişlerdir (95,96).

İn vitro çalışmalarda büyük moleküler ağırlıklı veya partiküllü beta-glukanların lökositlerin fagositik, sitotoksik aktivitelerini artırarak reaktif oksijen ve nitrojen aracılı antimikrobiyal aktivitelerini arttırdığı, direkt olarak lökositleri aktif hale getirdiği, ayrıca IL-8, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi sitokinleri stimüle ettikleri gösterilmiştir (97,98).

Glukanların hücresele aktive üzerindeki etkisinin başlaması için gerekli olan ilk basamak hücre membranı üzerine lokalize olmuş reseptörler tarafından glukan polimerlerinin tanınmasıdır (99). Hücresele beta-glukan reseptörleri makrofajlar, nötrofiller, eozinofiller ve NK hücrelerinde saptanmıştır. Bu hücrelerdeki beta-glukan reseptörleri çoğuldur ve CR3, Dectin-1 ve laktosilseramid bunların başlıcalarıdır. Bu reseptörler içinde en önemlisi Dectin-1'dir. Dectin-1'in solubl ve parçalı beta-glukanlar için makrofajlar üzerindeki majör reseptör olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yakın zamanda Dectin-1'in beta-glukan ile oluşan proinflamatuvar sitokin üretimi ve hücresele immün yanıtı aracılık ettiği saptanmıştır (100).

β -glukanın invitro olarak konakçı hücrede hücresele stimülasyonu ve/veya bakterilerin makrofajlar tarafından içine alınmasını artırarak *Mycobacterium tuberculosis*'in çoğalmasını engellediği tespit edilmiştir (101).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmaya 6 aylık ve ağırlıkları 150-250g arasında değişen toplam 30 erkek wistar albina türü rat (Ankara özel rat yetiştirme birimi) dahil edildi (102). Çalışma öncesinde Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu onayı alındı. Denekler çalışmadan bir hafta öncesinde rastgele örnekleme metodu ile randomize edilerek 6'şarlı 5 gruba ayrıldı. Çalışmanın yapılacağı güne kadar serbest su ve yem verilerek oda ısısında saklandı. Çalışmanın yapılacağı günden önceki gece su serbest olmak üzere ratlar 24 saat aç bırakıldı.

Ratlarda sepsis modeli oluşturmak için standart *S. aureus* suşu (ATCC 29213) kullanıldı. Doğrulama amacıyla suş koyun kanlı agar ekildi. 18-24 saat 37 °C'de inkübasyonun ardından üreyen koloniler değerlendirildi. Kolonilerde β hemoliz ve altın sarı renkte pigment mevcuttu. Bu kolonilerden gram boyama yapıldı, gram (+) kok olduğu görüldü. Kolonilere katalaz testi yapıldı, pozitif olduğu görüldü. Kolonilerin stafilokok olduğu bu şekilde doğrulandı. Daha sonra stafilokok kolonilerine koagülaz testi uygulandı. Koagülaz pozitif olanlar *S. aureus* olarak tanımlandı. Bu kolonilerden steril serum fizyolojik ile standart Mc Farland 4 olacak şekilde (12×10^8 cfu/ml) dansitometrede kontrol edilerek süspansiyon haline getirildi. Bir ml'lik, 24 adet süspansiyon hazırlandı.

3.1. GRUPLAR VE ÇALIŞMA PROSEDÜRÜ

Çalışma grupları şöyle oluşturuldu:

1.grup: Sepsis grubu (n=6) Sherwood ve ark. tarafından tarif edilen şekilde sepsis modeli oluşturuldu (103). Bunun için ratlara 12×10^8 cfu/ml *S. aureus* içeren 1 cc bakteri süspansiyonu intraperitoneal verildi. Önce 3-5 mg/kg xylazin (Rompan, Bayer) ve 40-90 mg/kg ketamin (ketamine Hcl 50 mg/1 Pfizer) ile anestezi verildi, 2 saat sonra ratlardan 0,5 cc kan alındı. Alınan kanlardan Peds Plus/F (BD Bactec) kültür ekimi yapılarak sepsis gelişip gelişmediği araştırıldı.

Sepsis gelişen ratlardan intraperitoneal *S. aureus* injeksiyonundan 4–6–8 saat sonra 3 kez 1'er cc kan alınarak serumlarında TNF- α , IL-1, IL-6, IFN- γ araştırıldı.

2. grup: Sepsis ve sefazolin verilecek grup (n=6) Sepsis ve sefazolin gruba, sepsis oluşturulduktan sonra 100 mg/kg sefazolin (İ.E.Ulagay ilaç, Türkiye) intraperitoneal verildi. Daha sonra yukarıdaki işlemler sırasıyla tekrar edildi.

3. grup: Sepsis ve beta glukan verilecek grup (n=6) Bu gruba, sepsis oluşturulduktan sonra 4 mg/kg beta glukan (Mustafa Nevzat ilaç, Türkiye) intraperitoneal verildi. Daha sonra yukarıdaki işlemler sırasıyla tekrar edildi.

4. grup: Sepsisli olup; beta glukan ve sefazolin verilecek grup (n=6) . Sepsis, beta glukan ve sefazolin gruba, sepsis oluşturulduktan sonra 100 mg/kg sefazolin (İ.E.Ulagay) intraperitoneal ve 4 mg/kg beta glukan (Mustafa Nevzat ilaç, Türkiye) intraperitoneal verildi. Daha sonra yukarıdaki işlemler sırasıyla tekrar edildi.

5. grup: Kontrol grubu. Bu gruptaki ratlara intraperitoneal serum fizyolojik uygulandı. Yukarıda anlatıldığı şekilde anestezi uygulandı. Serum fizyolojik verildikten 4–6–8 saat sonra 3 kez 1'er cc kan alınarak serumlarında TNF- α , IL-1, IL-6, IFN- γ araştırıldı.

3.2. MİKROBİYOLOJİK DEĞERLENDİRME

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında yapılan değerlendirmede, kan kültürü için Peds Plus/F (BD BACTEC) aerob kan kültür şişesine alınan örnekler, Bactec 9050 (Becton Dickinson) otomatize kan kültür sisteminde enkübe edildi. Peds Plus/F (BD Bactec) şişesi; soyhean-casein digest broth, yeast extract, animal tissue digest, sodium pyruvate, dextrose, sucrose, hemin, menadione, sodium polyanetholsulfonate (SPS), pyridoxal HCl, resin ilavesi ile 40 ml tamamlanmış besiyeridir. Bactec sistemi, şişedeki CO₂

miktarını belli aralıklarla ölçmektedir. Bu miktar önceden belirlenmiş olan üreme indeksini geçtiği zaman sinyal alınmakta şişeden pasaj yapıp işleme devam edilmektedir. Bactec sisteminde üreme florusan bir sensör ile saptanmaktadır. Ekim yapılan şişeler 35-37 °C'de enkübe edilip, sürekli çalkalanmakta ve 10 dk aralarla izlenmektedir. Sıvı kültür şişelerinde oluşan CO₂ üretimi sürekli olarak kalorimetrik prensibe göre ölçülmekte ve cihazın her hücresindeki reflektometreler tarafından sürekli izlenmektedir. Pozitif şişe saptandığında görüntülü ve sesli mesaj ile pozitifliği bildirmektedir. Bactec kan kültür şişesinde cihaza konulduktan sonra ortalama 20 saatte üreme saptandı. Bu sistemde pozitiflik saptanan şişelerden kanlı agar ve Eosin-Metilen-Blue (EMB ağıar) plaklarına pasaj yapılarak 37 °C'de 18-24 saat süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda üreyen koloniler konvansiyonel yöntemler olan katalaz ve koagülaz testi ile tanımlandı. Yedi gün içerisinde pozitiflik sinyali vermeyen örnekler negatif kabul edildi.

3.3. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Serum örnekleri için EDTA'lı tüplere alınan 1 ml kan 3000 rpm'de 10 dakika santifüj edildi. Santifüj sonrası üstte kalan plazma TNF- α , IL-1, IL-6 ve IFN- γ çalışılmak üzere -80 ° C' de saklandı. Serum TNF- α ölçümü in-vitro ticari ELISA kitleri (Invitrogen Corporation, Camarillo), serum IL-1 ölçümü in-vitro ticari ELISA kitleri (Invitrogen Corporation Carlsbad, Kaliforniya), serum IL-6 ölçümü in-vitro ticari ELISA kitleri (Invitrogen Corporation, Camarillo) ve serum IFN- γ ölçümü Bender MedSystems ticari ELISA kitleri (Bender MedSystems GmbH Vienna, Avusturya) kullanılarak yapıldı. ELISA kitlerinin absorbans okumaları ve sonuçların hesaplanması Trinity Biotech Captia Reader (Trinity Biotech PLC, Bray Co. Wicklow, İrlanda) cihazında yapıldı. TNF- α , IL-1, IL-6 ve IFN- γ ölçümlerinin her biri için birim pg/ml kabul edildi.

Rat IFN- γ ölçümü, Bender MedSystems (Bender MedSystems GmbH Campus Vienna Biocenter 21030 Vienna, Avusturya) marka Rat Ifn-gamma ELISA kiti kullanılarak yapıldı. Kit içerisinde bulunan stok standarttan

dilüsyonlar yapılarak 7 standart (1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.3 ve 0 pg/ml) hazırlandı. Standartlardan 100'er µl, mikroküvetlere sırasıyla konuldu. Numune küvetlerine 50 µl numune dilüenti ve her bir örnekten 50 µl konuldu. Bütün küvetlere 50 µl "Biotin-Conjugate" ilave edildi ve üzerleri filmle kaplanarak 2 saat oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonu bütün küvetler yıkama solüsyonuyla 3 kez yıkandı. Yıkama sonrası bütün küvetlere 100 µl streptavidin-HRP konuldu ve üzerleri filmle kaplanarak 1 saat oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası küvetler 3 kez yıkama solüsyonuyla yıkandı. Bütün küvetlere 100 µl TMB substrat solüsyonundan konularak 10 dakika oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 100 µl "stok" solüsyonundan konularak Trinity Biotech Captia Reader elisa okuyucusunda (Trinity Biotech PLC. Bray, CO. Wicklow, İrlanda) 450 nm dalga boyunda okutuldu. Sonuçlar dilüsyon faktörüyle çarpıldı ve pg/ml olarak verildi.

Rat TNF- α ölçümü Invitrogen (Invitrogen Corporation 542 Flynn Rd, Camarillo, CA 93012) marka Rat TNF-alpha ELISA kiti kullanılarak ölçüldü. Kit içerisinde çıkan stok standarttan dilüsyonlar yapılarak 7 standart (375, 187.5, 93.8, 46.9, 23.4, 11.7 ve 0 pg/ml) hazırlandı. Serum numuneleri inkübasyon bufferla 1.2 dilüe edildi. Standartlar ve numuneler mikro küvetlere 100 µl pipetlendi. Üzeri filmle kaplanarak 2 saat oda ısısında inkübe edildi. Yıkama solüsyonuyla 4 kez yıkama yapıldı. Bütün küvetlere 100 µl biotin konjugat pipetlendi ve 1 saat oda ısısında inkübe edildi ve 4 kez yıkama yapıldı. Bütün küvetlere 100 µl streptavidin-HRP çalışma solüsyonu pipetlendi, 30 dk oda ısısında inkübe edildi ve 4 kez yıkama yapıldı. 100 µl stabilize edilmiş kromojen pipetlendi, 30 dk renk oluşumu için inkübe edildi. 100 µl stop solüsyonu pipetlenerek Trinity Biotech Captia Reader elisa okuyucusunda (Trinity Biotech PLC. Bray, CO. Wicklow, İrlanda) 450 nm dalga boyunda okutuldu. Sonuçlar dilüsyon faktörüyle çarpıldı ve pg/ml olarak verildi.

Rat IL-6 ölçümü Invitrogen (Invitrogen Corporation, Camarillo) marka Rat IL-6 ELISA kiti kullanılarak ölçüldü. Kit içerisinde çıkan stok standarttan dilüsyonlar yapılarak 7 standart (1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2 ve 0 pg/ml)

hazırlandı. Standartlardan 100'er µl mikroküvetlere sırasıyla konuldu. Numune küvetlerine 50 µl numune dilüenti ve her bir örnekten 50 µl konuldu. Üzerleri filmle kaplanarak 2 saat 37 °C'de inkübe edildi. 4 kez yıkama solüsyonuyla yıkama yapıldı. 100 µl biotin konjüгат pipetlendi ve 1 saat oda ısısında inkübe edildi, 4 kez yıkama yapıldı. Bütün küvetlere 100 µl streptavidin-HRP çalışma solusyonu pipetlendi. 30 dk oda ısısında inkübe edildi. 4 kez yıkama yapıldı. 100 µl stabilize edilmiş kromojen pipetlendi, 30 dk renk oluşumu için inkübe edildi. 100 µl stop solüsyonu pipetlenerek Trinity Biotech Captia Reader elisa okuyucusunda (Trinity Biotech PLC. Bray, CO. Wicklow, İrlanda) 450 nm dalga boyunda okutuldu. Sonuçlar dilüsyon faktörüyle çarpıldı ve pg/ml olarak verildi.

Rat IL-1β ölçümü Invitrogen (Invitrogen Corporation, Camarillo) marka Rat IL-1B kiti kullanılarak ölçüldü. Kit içerisinde çıkan stok standarttan dilüsyonlar yapılarak 7 standart (1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2 ve 0 pg/ml) hazırlandı. Standartlardan 100'er µl mikroküvetlere sırasıyla konuldu. Numune küvetlerine 50 µl numune dilüenti ve her bir örnekten 50 µl konuldu. Üzerleri filmle kaplanarak 3 saat oda ısısında inkübe edildi. 4 kez yıkama solüsyonuyla yıkama yapıldı. 100 µl biotin konjüгат pipetlendi ve 1 saat oda ısısında inkübe edildi. 4 kez yıkama yapıldı, bütün küvetlere 100 µl streptavidin-HRP çalışma solusyonu pipetlendi. 30 dk oda ısısında inkübe edildi, dört kez yıkama yapıldı. 100 µl stabilize edilmiş kromojen pipetlendi, otuz dk renk oluşumu için inkübe edildi. 100 µl stop solüsyonu pipetlenerek Trinity Biotech Captia Reader ELISA okuyucusunda (Trinity Biotech PLC. Bray, CO. Wicklow, İrlanda) 450 nm dalga boyunda okutuldu. Sonuçlar dilüsyon faktörüyle çarpıldı ve pg/ml olarak verildi.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirmeler "SPSS 13,0 for Windows ve Winks SDA 6" istatistiksel paket programları kullanılarak yapıldı. Veriler tanımlayıcı istatistik ile özetlendi. Verilerin normallik kontrolünde Shapiro-Wilks testi, grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi, her bir parametrenin grup başında saatlerin karşılaştırılmasında ise tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanıldı.

Ayrıca farklı olan grupların belirlenmesinde Post-hoc çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey HSD testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler \pm standart hata olarak verildi. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel anlamlı olarak değerlendirildi.

IV. BULGULAR

4.1. MİKROBİYOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında yapılan değerlendirmede, kan kültürü için Peds Plus/F (BD BACTEC) aerob kan kültür şişesine alınan örnekler, BACTEC 9050 (Becton Dickinson) otomatize kan kültür sisteminde değerlendirildi. Kültür şişesi cihaza konduktan sonra ortalama 20 saatte tüm gruplarda üreme saptandı. Kan kültüründe *S.aureus* üredi ve bu sonuç “sepsis modelinin oluştuğu” şeklinde değerlendirildi.

4.2. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Çalışma sonrasında kontrol grubundaki ratlarda ölüm gerçekleştiği için çalışmadan çıkarıldı.

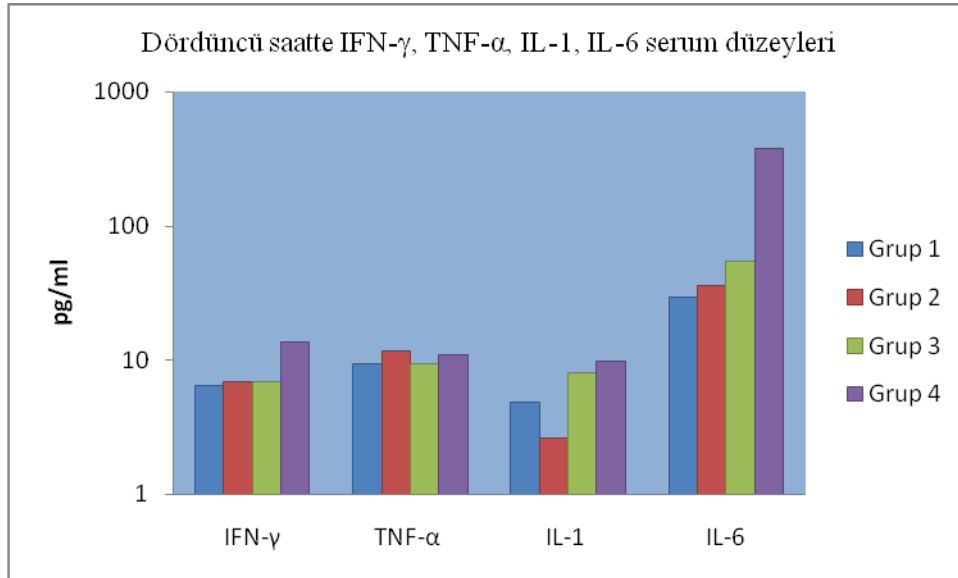
Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre; serum IFN- γ değerleri incelendiğinde, 4. saatte gruplar arasında fark saptanmadı (Tablo IV). Altıncı saatte ise grup I, grup II, grup III, grup IV arasında istatistiksel farklılık izlendi ($p=0.006$) (Tablo V). Buna karşılık 8. saatte grup I, grup II, grup III ve grup IV arasında fark gözlenmedi ($p=0.083$) (Tablo VI). IFN- γ düzeyleri grupların kendi içinde saat farklarına göre değerlendirildiğinde; grup I ve grup III’de istatistiksel olarak fark gözlenmedi. Grup II’de ise 8. saatteki artış 4 ve 6. saattekine göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo VII). Grup IV’de ise 4. saatten 6. saate geçildiğinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptanırken, 8. saatte 4. saatin altında bir düzeye ulaşıldı. Bu grupta 4. ve 6. saatler arasındaki artış istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.005$) (Tablo VII).

Serum TNF- α düzeyleri değerlendirildiğinde, 4. 6 ve 8. saatlerde dört grup arasında istatistiksel fark saptanmadı (Tablo IV, V, VI). Gruplar kendi içinde incelendiğinde ise yalnızca III. gruptaki değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (Tablo VIII).

Tablo IV: Dördüncü saatte serum IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'nin düzeyleri

	4. saat IFN- γ pg/ml	4. saat TNF- α pg/ml	4. saat IL-1 pg/ml	4. saat IL-6 pg/ml
Grup I (n=6)	6,45 \pm 0,88	9,53 \pm 0,58	4,92 \pm 1,36	29,92 \pm 2,83
Grup II (n=6)	6,99 \pm 0,52	11,81 \pm 1,41	2,63 \pm 0,17	36,40 \pm 5,22
Grup III (n=6)	6,87 \pm 1,50	9,47 \pm 1,76	8,10 \pm 1,59	54,45 \pm 11,70
Grup IV (n=6)	13,56 \pm 3,49	10,99 \pm 1,50	9,84 \pm 3,31	376,94 \pm 276,54
<i>p değeri</i>	0,056	0,574	0,073	0,249

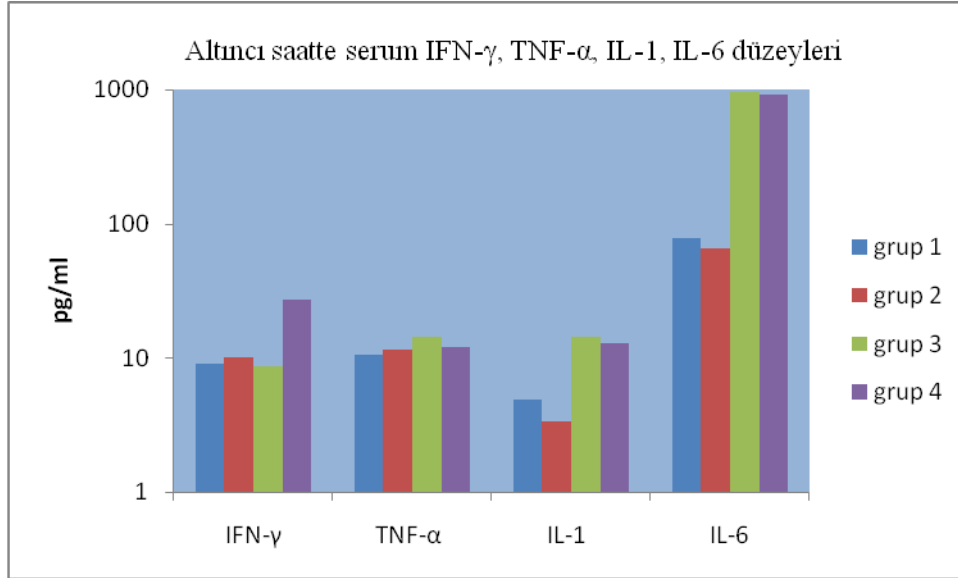
Grafik I: Dördüncü saatte serum IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'nin düzeyleri



Tablo V: Altıncı saatte serumda IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'nin düzeyleri

	6. saat IFN- γ pg/ml	6. saat TNF- α pg/ml	6. saat IL-1 pg/ml	6. saat IL-6 pg/ml
Grup I (n=6)	8,97 \pm 1,29 ^a	10,45 \pm 0,93	4,87 \pm 1,35 ^a	77,67 \pm 7,82 ^a
Grup II (n=6)	9,97 \pm 1,33 ^a	11,50 \pm 1,26	3,33 \pm 0,94 ^a	65,08 \pm 11,21 ^a
Grup III (n=6)	8,55 \pm 1,21 ^a	14,21 \pm 2,59	14,33 \pm 3,22 ^b	961,96 \pm 334,18 ^b
Grup IV (n=6)	27,17 \pm 7,30 ^b	12,07 \pm 1,75	12,90 \pm 3,48 ^b	920,07 \pm 402,77 ^b
<i>p değeri</i>	0,006	0,500	0,01	0,029

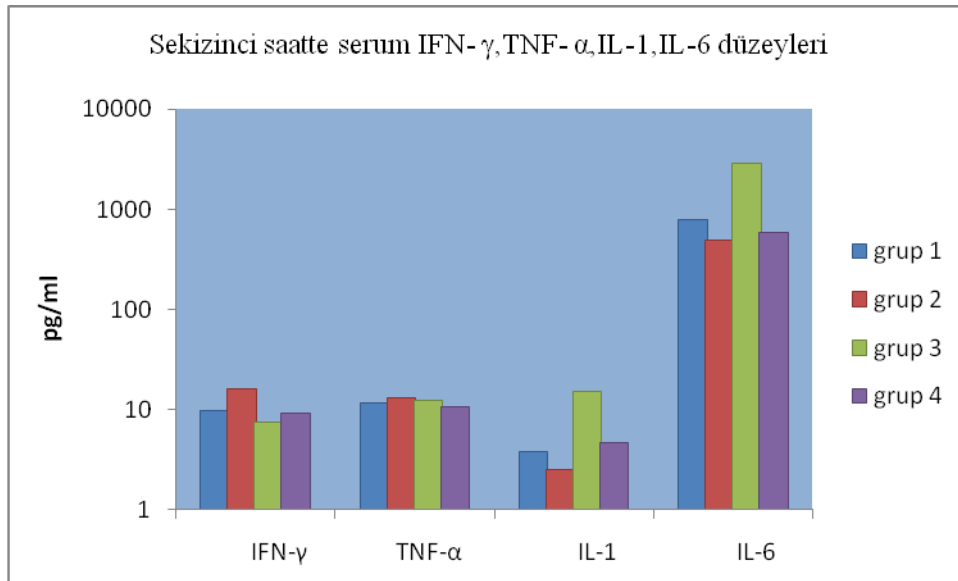
Grafik II: Altıncı saatte serumda IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'nin düzeyleri



Tablo VI: Sekizinci saatte serum IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'nin düzeyleri

	8. saat IFN- γ pg/ml	8. saat TNF- α pg/ml	8. saat IL-1 pg/ml	8. saat IL-6 pg/ml
Grup I (n=6)	9,83 \pm 1,85	11,64 \pm 1,53	3,83 \pm 0,88 ^a	795,07 \pm 220,11 ^a
Grup II (n=6)	16,01 \pm 3,80	13,07 \pm 1,78	2,53 \pm 0,28 ^a	486,89 \pm 123,15 ^a
Grup III (n=6)	7,54 \pm 0,77	12,35 \pm 1,94	15,02 \pm 2,85 ^b	2872,21 \pm 958,22 ^b
Grup IV (n=6)	9,15 \pm 1,73	10,52 \pm 0,84	4,71 \pm 1,05 ^a	591,12 \pm 184,27 ^a
<i>p değeri</i>	0,083	0,707	0,000	0,009

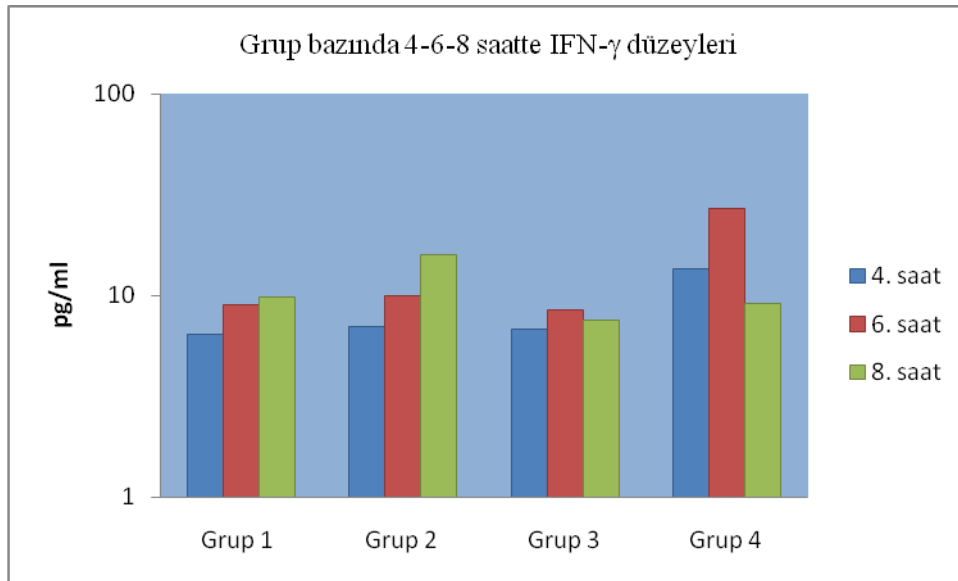
Grafik III: Sekizinci saatte serum IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6'nin düzeyleri



Tablo VII: Grup bazında 4-6-8. saatte serum düzeyleri IFN- γ

	4. saat IFN- γ pg/ml	6. saat IFN- γ pg/ml	8. saat IFN- γ pg/ml	<i>p değeri</i>
Grup I (n=6)	6,45±0,88	8,97±1,29	9,83±1,85	0,073
Grup II (n=6)	6,99±0,52 ^a	9,97±1,33 ^a	16,01±3,80 ^b	0,029
Grup III (n=6)	6,87±1,50	8,55±1,21	7,54±0,77	0,190
Grup IV (n=6)	13,56±3,49 ^a	27,17±7,30 ^b	9,15±1,73 ^a	0,005

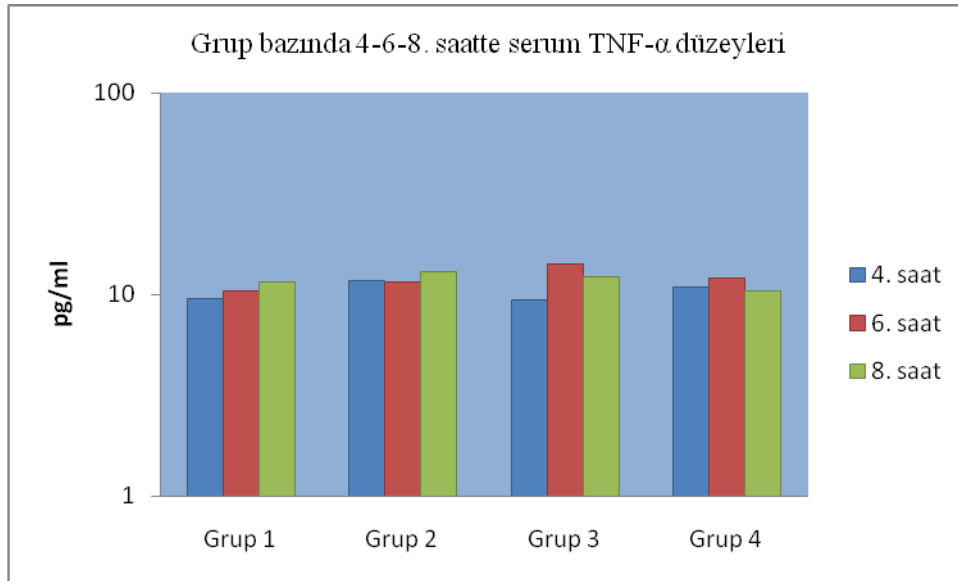
Grafik IV: Grup bazında 4-6-8. saatte serum düzeyleri IFN- γ



Tablo VIII: Grup bazında 4-6-8. saatte serum TNF- α düzeyleri

	4. saat TNF- α pg/ml	6. saat TNF- α pg/ml	8. saat TNF- α pg/ml	<i>p</i> değeri
Grup I (n=6)	9,53±0,58	10,45±0,93	11,64±1,53	0,304
Grup II (n=6)	11,81±1,41	11,50±1,26	13,07±1,78	0,759
Grup III (n=6)	9,47 ± 1,76	14,21±2,59	12,35±1,94	0,050
Grup IV (n=6)	10,99 ±1,50	12,07±1,75	10,52±0,84	0,664

Grafik V: Grup bazında 4-6-8. saatte serum TNF- α düzeyleri

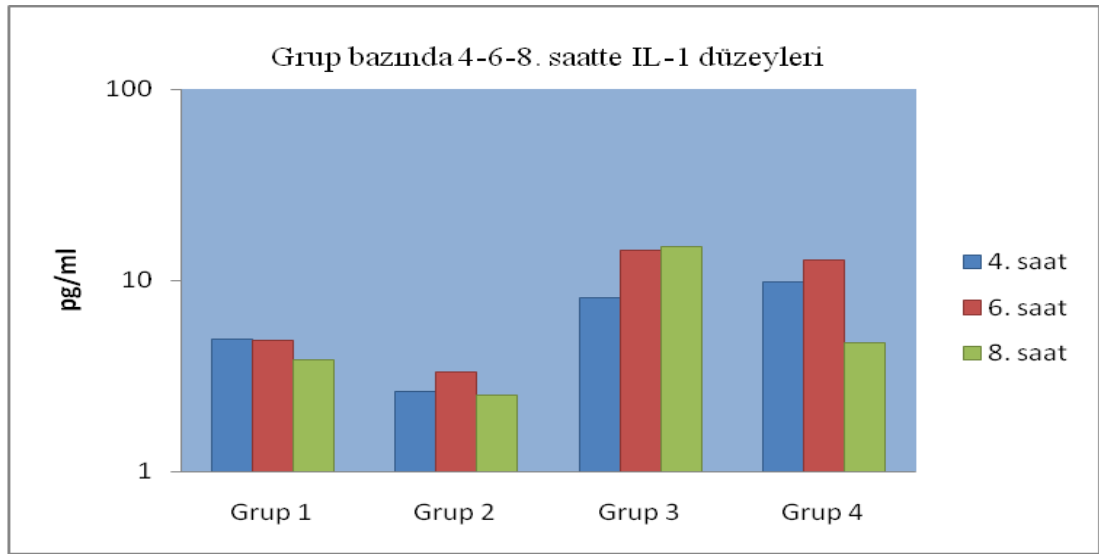


Serum IL-1 düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında, 4. saatte fark saptanmadı (TabloIV). Buna karşılık altıncı ve sekizinci saatlerde ise; istatistiksel farklılık izlendi ($p=0.01$) ($p=0.000$) (Tablo V ve VI). Gruplar kendi içinde incelendiğinde ise dört grupta da 4.-6. ve 8. saatlerde istatistiksel fark saptanmadı (Tablo IX).

Tablo IX: Grup bazında 4-6-8. saatte serum IL-1 düzeyleri

	4. saat IL-1 pg/ml	6. saat IL-1 pg/ml	8. saat IL-1 pg/ml	<i>p değeri</i>
Grup I (n=6)	4,92±1,36	4,87±1,35	3,83±0,88	0,784
Grup II (n=6)	2,63±0,17	3,33±0,94	2,53±0,28	0,646
Grup III (n=6)	8,10±1,59	14,33±3,22	15,02±2,85	0,141
Grup IV (n=6)	9,84±3,31	12,90±3,48	4,71±1,05	0,175

Grafik VI: Grup bazında 4-6-8. saatte serum IL-1 düzeyleri

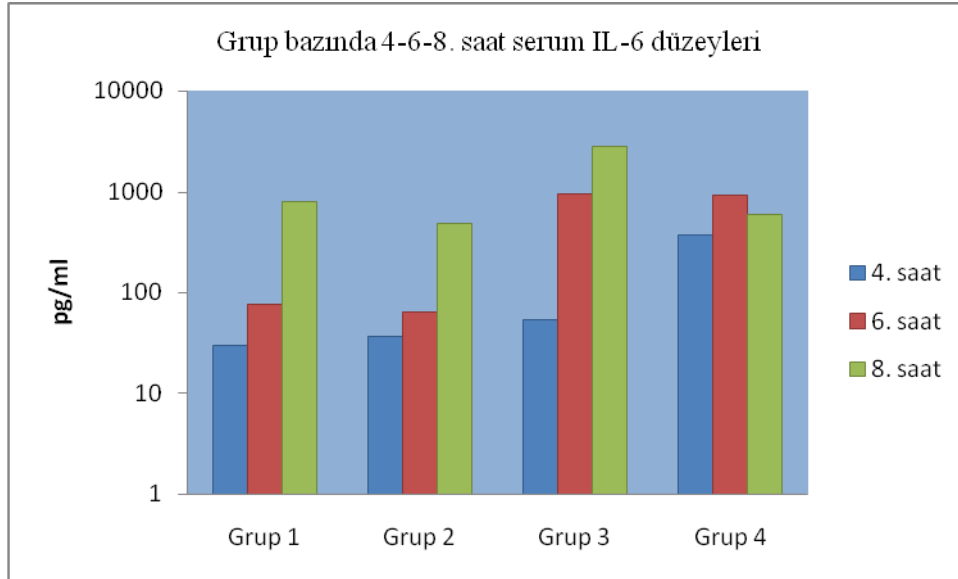


Serum IL-6 düzeyleri değerlendirildiğinde; 4. saatte gruplar arasında fark saptanmadı (Tablo IV), altıncı ve sekizinci saatlerde ise istatistiksel farklılık izlendi ($p=0.029$ ve $p=0.009$), (Tablo V,VI). Gruplar kendi içinde incelendiğinde ise sadece grup I, grup II ve grup III' de 8. saatteki artış 4. ve 6. saattekine göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.003$, $p=0.002$) ($p=0.017$) (Tablo X).

Tablo X: Gruplar arasında serumda IL-6 'ın 4-6-8. saat düzeyleri

	4. saat IL-6 pg/ml	6. saat IL-6 pg/ml	8. saat IL-6 pg/ml	<i>p değeri</i>
Grup I (n=6)	29,92±2,83 ^a	77,67±7,82 ^a	795,07±220,11 ^b	0,003
Grup II (n=6)	36,40±5,22 ^a	65,08±11,21 ^a	486,89±123,15 ^b	0,002
Grup III (n=6)	54,45±11,70 ^a	961,96±334,18 ^a	2872,21±958,22 ^b	0,017
Grup IV (n=6)	376,94±276,54	920,07±402,77	591,12±184,27	0,453

Grafik VII: Gruplar arasında serumda IL-6 'ın 4-6-8. saat düzeyleri



V. TARTIŞMA

Sepsis, hasar bölgesinden uzaktaki organlarda işlev bozukluğu ile organ yetmezliklerinin gelişmesine neden olabilen ağır ve önemli bir tablodur. Tanı ve tedavi alanındaki gelişmelere rağmen sepsis ve ilişkili klinik tablolar yoğun bakım ünitelerinde izlenen en sık ölüm sebebidir (104).

Patogenezinde sitokinlerden apoptoza kadar birçok faktörün rol aldığı öne sürülmüştür. Prognoz açısından ise en önemli nokta sepsis tablosunun erken tanınıp, etkin tedavinin hemen başlatılmasıdır (105).

Sepsisteki kötü gidiş ve mortaliteden asıl sorumlu olan aşırı ve düzensiz immün yanıtı kontrol etmek ve önlemek amacıyla günümüze kadar birçok antiendotoksin, antiinflamatuvar ve immünmodülatör tedavi denenmiştir. Bunlardan klinik faydası kanıtlananlar tedaviye dirençli şoktaki hastalarda düşük doz kortikosteroid tedavisi ve APC'dir (54). Spesifik antiendotoksin tedavide *E. coli J5* antiserumu, endotoksin lipit A komponentine karşı geliştirilen E5 ve HA-1A antikorları, bakterisidal geçirgenliği artıran protein (BPI), IL-1 reseptör antagonistleri (IL-1ra), anti-TNF antikorları, PAF reseptör antagonistleri, NOS inhibitörleri (L-NAME), siklooksijenaz inhibitörleri, pentoksifilin, immünglobülinler (İVİG), IFN- γ , GM-CSF gibi çeşitli ajanlarla yapılan deneysel çalışmalarda olumlu sonuçlar da alınmış olmasına rağmen bu sonuçların klinik çalışmalara yeterince yansımadağı saptanmıştır (106).

Sepsiste immün sistemin baskılanması, konakçı florasının değışmesi, epitelyel bariyerlerdeki artmış geçirgenlik bakteriyel translokasyonu artırmaktadır. Bakterilerin kana geçmesi, lökositlerle ve parankimal hücrelerle etkileşimi kontrolsüz inflamatuvar cevabı tetiklemektedir. TNF- α ve IL-1 salınımı bu inflamatuvar cevaptaki en önemli adım olarak görülmektedir. Sitokinlerin salınımı diğer sitokinlerin salınımına, araşidonik asit metabolizmasına, integrin ekspresyonuna, kompleman aktivasyonuna ve nitrik oksit üretimine neden olmaktadır (107).

Aktive olmuş makrofajlardan diğer hücre tiplerini aktive eden bir takım çözümler mediyatörler salınır. Bu mediyatörler içinde en iyi tanımlanmış olanlar proenflamatuvar etkileri ile TNF- α , IL-1 β ve IL-6'dır. Bu sitokinler direkt ya da dolaylı olarak önce hücresel düzeyde, daha sonra da dokularda bir takım değişikliklere sebep olurlar (108). TNF- α ve IL-6'nın her ikisi de apoptosiste anahtar rol oynar. Sitokinler sadece apoptozisi modüle etmekle kalmaz, aynı zamanda makrofajların apoptotik hücreleri fagosite etme kapasitelerini de artırırlar (109).

Glukan polimerlerinin nötrofil ve makrofaj hücre serilerine bağlandıkları, immün sistemi uyardıkları, enfeksiyonlara karşı direnç sağladıkları birçok çalışmada gösterilmiş olmasına rağmen, hücresel ve moleküler mekanizmalarına tam bir açıklık getirilememiştir. Yapılan çalışmalarda, glukan polimerlerinin reseptörlerine bağlanarak yanıt oluşturabilmesi için fiziksel ve kimyasal bir takım parametrelere sahip olması gerektiği söylenmektedir. Ancak immünomodulator özellikler ile bu parametreler arasındaki ilişki tam olarak aydınlatılamamıştır (110).

S. cerevisiae' dan elde edilmiş farklı yapılarıdaki glukanlar ile yapılmış birçok çalışmada (1-3);(1-6)- β -D yapısındaki glukanın immunomodulator etkinliği kanıtlanmıştır (111,112). Bu çalışmalar mantar glukan polimerlerinin patern-tanıyıcı reseptörlere bağlandığı konusunda bir delil olmaktadır (113). Brown ve Gordon tarafından beta glukan polimerlerinin özgül reseptörü olarak tanınan dectin-1 molekülünün farklı bağlar içeren bazı glukan partiküllerini tanımadığı gösterilmiştir. Bunlar arasında (1-4) bağlı selüloz ve α bağı içeren mannan sayılabilir (114). Brown ve arkadaşları, glukan uygulanması sonrasında TNF- α ve IL-12 salınımının olması için glukan polimerinin hem TLR-2, hem de dectin-1 reseptörünü aynı anda uyarması ve NK κ B aktivasyonunun gerçekleşmesi gerektiğini göstermişlerdir (100).

IFN- γ makrofajları, T lenfositleri ve NK hücrelerini aktive eder. PMNL'lerin adezyonunu, birikimini ve fagositik aktivitesini arttırır. Makrofajların mikrobisidal fonksiyonunu arttırır (115). Soltys ve ark. in vitro LPS uygulanması sonucu beta gluklan ile tedavi edilmiş farelerden izole edilen lenfosit ve monositlerde anlamlı olarak IFN- γ üretiminde artış bildirilmişlerdir (116). Sherwood ve ark. gluklan fosfatın IFN- γ üretimini direkt olarak stimüle etme özelliğini değerlendirdikleri çalışmada; LPS indüksiyonun ardından serum fizyolojik verilen kontrol grubu farelerle kıyaslanınca, gluklan ile tedavi edilenlerde IFN- γ serum seviyeleri LPS indüksiyonundan 3 saat sonra iki kattan fazla artış gösterirken, 6. saatte bir katından fazla artış olduğu gösterilmiştir. İnflamutuar bir stimulusa cevap olarak gluklan fosfat, immun sistemde IFN- γ üretimine neden olduğunu ve gluklanın IFN- γ sekresyonunu arttırması ile artmış antimikrobiyal immunité arasında bağlantı olduğunu belirtmişlerdir (103). Bizim çalışmamızda beta gluklanın 4. saatte IFN- γ salınımını arttırdığı, ancak 6. ve 8. saatlerde sepsis grubuna göre bir artışın olmadığı saptandı. Bu duruma göre beta gluklan sepsiste ilk saatlerde (ilk 4 saatte) IFN- γ 'yı arttırmaktadır. Beta gluklanın sefazolin ile birlikte verilmesi özellikle 6. saatte IFN- γ 'yı en yüksek düzeye ulaştırmıştır. Ayrıca sefazolin verilen grupta ulaşılan IFN- γ değerleri beta gluklan verilen gruptan daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar beta gluklanın daha ilk saatlerde IFN- γ 'yı indüklediğini, ama bu etkinin bir antibiyotik (sefazolin) kadar olmadığını, antibiyotikle birlikte bu etkinin ilk 6 saatte daha belirgin olduğunu düşündürmektedir. Bu sonuçlar yukarıda adı geçen çalışmalarla uyumluluk göstermiştir.

Sepsisli hastalarda TNF- α salınım ilk proinflatuar sitokindir. TNF- α ve IL-1 β biyolojik olarak bağlantılıdır ve sinerjist etkiyle inflamasyonu ilerleterek sepsisin klinik bulgularının çoğundan sorumlu olurlar (50). Bakteriler Toll-benzeri reseptörler aracılığı ile NF- κ B'nin aktivasyonunu sağladıklarından hem TNF- α hem de IL-1 β gibi proinflatuar sitokinlerin ve IL-10 gibi antiinflamutuar sitokinlerin transkripsiyonunu arttırabilmektedirler (47). Şener ve ark. deneysel hayvan sepsis modelinde beta gluklan verilmesini takiben TNF- α seviyelerini düşük tesbit etmişlerdir (117,118). Soltys ve ark. invitro LPS

uygulanımını takiben beta glukana tedavi edilen farelerden elde edilen lenfositlerin 8. saatteki TNF- α üretimi, beta glukana ile tedavi edilmeyen farelerle karşılaştırıldığında daha düşük seviyede bulunmuştur. Beta glukana farelerdeki proinflatuar sitokin üretimini, özellikle TNF- α üretimini baskıladığını ve beta glukana tedavisinin sepsiste sitokin indüksiyonunu kontrol edebileceğini, mortaliteyi azaltabileceğini ifade etmişlerdir (116). Benderli ve ark. çekal ligasyon sonrası ratlarda oluşturulan sepsis modelinde plazma TNF- α , IL-1 ve IL-6 konsantrasyonlarının arttığını, beta glukana verildiğinde TNF- α , IL-1 β ve IL-6'nın yükselmesini tamamen bloke ettiğine ilişkin veriler elde etmişlerdir (119). Bu çalışmada ise, beta glukana verilen grupta ancak 8. saatte TNF- α düzeyinde bir baskılanma saptandı. Ancak bu baskılanmaya rağmen, 8. saatte ölçülen TNF- α değeri, sepsis grubundan daha yüksek olarak bulundu. Buna göre beta glukana bizim çalışmamızda TNF- α 'yı baskıladığı ve sepsiste bu anlamda faydalı olabileceğine dair bir bulgu elde edemedik. Sefazolinle birlikte beta glukana verilen grupta 8. saatte, sepsis grubuna göre daha düşük TNF- α değeri saptandı. Ancak tek başına beta glukana verilen grupta aynı sonuca ulaşamadı. Beta glukana bu anlamda sepsiste bir katkı sağlamadığı düşüncesini uyandırmaktadır.

IL-1 çeşitli hücre tiplerini aktive ederek proinflatuar olaylara neden olur. IL-1 ve TNF- α , inflamatuvar sepsis kaskadında beraber hareket eder ve diğer proinflatuar sitokinlerin (IL-12, IL-18) salınımında artışına neden olur (120). Sandvik ve ark., *E.coli* LPS'inin I.V. infüzyonu ile ratlarda oluşturulan endotoksemide subkutan β -1,3/1,6-glukana tedavisi ile IL-1 α bazal plazma seviyesinde hafif artış olduğunu, ancak diğer sitokinlerin seviyesinde anlamlı bir değişim olmadığını bildirmişlerdir. LPS'in indüklediği plazma IL-1 α , IFN- γ , IL-6 ve IL-12 plazma seviyelerindeki artışın profilaktik β -1,3/1,6-glukana tedavisi ile daha geç oluştuğunu ve β -1,3/1,6-glukana ile tedavi edilen ratlarda sepsisin erken mediatörü olan bu mediatörlerin daha hızlı bir şekilde bazal plazma düzeylerine geri döndüğünü tesbit etmişlerdir (102). Wakshull ve ark. beta glukana verilmesinin ardından inflamatuvar sitokinlerin salınımında artış saptamadığını bildirmişlerdir (121). Lyuksutova ve ark. glukana fosfat tedavisinin TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımını azalttığını ifade etmişlerdir (122).

Bizim çalışmamızda ise bu çalışmanın tersine beta glukana verilen grupta 4.-6. ve 8. saatlerde IL-1 düzeyleri sepsis grubuna göre daha yüksekti. Beta glukana sefazolin eklendiğinde 8. saatte IL-1 düzeylerinde azalma tesbit edildiyse de, seviyesi sepsis grubundan yüksek seyretti. Sonuçta beta glukana kullanımının IL-1 düzeyini baskılamakta bir etkisi olduğunu saptamadık. IL-1 sitokinin baskılanması için beta glukana kullanımı anlamlı görünmemektedir.

IL-6'nın en önemli biyolojik etkinliği, B lenfosit matürasyonunu uyarmasıdır. IL-6'nın etkisi ile B lenfositler immünglobulin sentezleyebilen olgun plazma hücrelerine farklılaşırlar. Bu sitokinin B hücrelerinde immünglobulin (Ig) sentezinde artış, T hücre aktivasyonu ve akut faz proteinlerinde artışa yol açması proinflatuar, proinflatuar sitokinleri baskılaması da antiinflatuar özelliğidir. IL-6 hematopoezi ve trombopoezi uyarır, nötrofil aktivatörüdür. Kemik iliği kök hücrelerinin matürasyonunda diğer sitokinlerle sinerjistik etki gösterir (123). Soltys ve ark. in vitro LPS uygulanması sonucu beta glukana ile tedavi edilmiş farelerden izole edilen lenfositlerde 24 ve 48. saatlerde IL-6 üretiminde çok artış olduğunu bildirmişlerdir (116). Engstad ve ark. solubl beta 1,3 glukana ve LPS'nin tek başına veya kombine olarak kullanıldığında TNF- α , IL-6, IL-8 ve IL-10 sekresyonu ve monosit doku faktörü üretimi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, IL-6 seviyesinin 8 saat boyunca progresif arttığını ve daha sonra aynı seviyesine döndüğünü belirtmişlerdir (124). Babayiğit ve ark. çekal ligasyon yöntemi ile oluşturulan intraabdominal sepsis modelinde beta glukana akciğer üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada; sepsis ve glukana ile tedavi edilen grupta belirgin olarak IL-6 artışı saptanmıştır. Glukana ile tedavi edilen grupta sepsis grubuna göre daha belirgin artış makrofajların uyarılmasına bağlanmıştır. Beta glukana sepsiste akciğer ve kanda nötrofil birikimini azaltması, IL-6 üretimini artırmasından dolayı klinikte sepsisin akciğer komplikasyonlarını önlemek ve azaltmak amacı ile kullanılabileceği belirtmişlerdir (125). IL-6'nın hem proinflatuar hem de antiinflatuar özellikte olması önemlidir. Biz daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak beta glukana verilen grupta ilk 8 saatte IL-6 seviyelerinde progressif bir artış saptadık. Sefazolinle birlikte uygulandığında bu etkinlik ilk 4 saatte daha belirgin

olmaktadır. Bu bulgular beta glukanın IL-6'yı arttırmada etkisi olduğunu ve sepsis tedavisinde, yardımcı (ek) tedavi olarak uygulandığında faydalı sonuçlar verebileceğini göstermektedir.

Bizim çalışmamız, beta glukanın inflamatuvar bir stimulusa cevap olarak salınan proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , IL-1 üretimini baskılamadığını saptadık. IFN- γ üretimini ise ilk saatlerde arttırmaktadır. Ancak bu artışın sefazolin verilen grupta daha fazla olması, beta glukanın IFN- γ salınımını ilk saatlerde arttırmasını da klinik olarak çok anlamlı olmadığını düşündürmektedir. Beta glukanın IL-6 salınımında ise ilk 8. saatte belirgin artışlara yol açmıştır, tedaviye eklenmesinin faydalı olabileceği düşünülmüştür.

VI. SONUÇLAR

Beta-glukan yıllardır pek çok hastalığın tedavisinde immünmodülatör ajan olarak kullanılmaktadır. İmmün sistem üzerinde oluşturduğu olumlu etkiler ortaya çıkarılırken onkolojik hastalıklar, otoimmün bozukluklar, sistemik enfeksiyonlar gibi konak immüncesinin birincil derecede rol aldığı durumlarda etkinliği klinik çalışmalarla gösterilmiş ve bu hastalıkların tedavisinde yardımcı ilaç olarak kullanım alanı bulmuştur.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarda, *S.aureus* ile intraabdominal sepsis oluşturularak beta glukan uygulanan grupta TNF- α , IL-1 üretimini baskılamadığı, IL-6, IFN- γ değerlerini özellikle ilk saatlerde artırdığı ortaya çıkmıştır. Buna göre sepsis tedavisine ek olarak beta glukan verilmesi klinikte yararlı olabilir. Ancak bu sonuçlara göre etkinlik düzeyi ile ilgili net yorumlar yapmak mümkün değildir.

Sonuç olarak, beta glukanın etki mekanizması tam olarak ortaya konamamış olsa da immün sistemine olan etkileri, ilacın farklı doz ve kullanım sürelerinde ne gibi etkilerinin olduğunun saptanması amacıyla ileri deneysel ve klinik çalışmalara gereksinim vardır.

VII. ÖZET

STAPHYLOCOCCUS AUREUS İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL İNTRAABDOMİNAL SEPSİS MODELİNDE BETA GLUKANIN İMMÜNOMODULATÖR ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Giriş: Bu çalışmanın amacı *S. aureus* ile oluşturulan deneysel intraabdominal sepsis modelinde beta glukanın immünomodulatör etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Wistar albina sıçanlardan 30'u rastgele 5 gruba ayrıldı. Sırasıyla sepsis, sefazolin ile tedavi, beta glukana tedavi, beta glukana ve sefazolin tedavi ve kontrol grupları oluşturuldu. İntraabdominal yolla verilen 12×10^8 cfu/ml 1 cc *S. aureus* verildikten sonra intraabdominal 4 mg/kg beta glukana ve 100 mg/kg sefazolin verildi. 2 saat sonra 0,5 cc kan alınarak kan kültür şişesine ekim yapıldı. 4-6-8. saat sonra TNF- α , IL-1, IL-6, IFN- γ düzeyleri araştırıldı.

Bulgular: Biyokimyasal analizlere göre; çalışma sonunda beta glukana ilk 4. saatte IFN- γ 'yı arttırdığı, ancak 6. ve 8. saatlerde arttırmadığı görüldü. Sefazolin ile verildiğinde 6. saatte bu etki daha belirgin olmaktadır. Ancak sefazolin verilen grupta IFN- γ değerleri beta glukandan daha yüksek düzeyde saptandı. Serum TNF- α düzeyleri değerlendirildiğinde, beta glukana verilen grupta 8. saatte TNF- α düzeyinde bir baskılanma saptansa da sepsis grubundan daha yüksek olarak bulundu. Serum IL-1 düzeyleri değerlendirildiğinde, beta glukana verilen grupta 4-6 ve 8. saatlerde IL-1 düzeyleri sepsis grubuna göre daha yüksekti. Beta glukana sefazolin eklenen grupta 8. saatte IL-1 düzeylerinde azalma tesbit edildiyse de, bu düzeyler sepsis grubundan yüksek saptandı. Serum IL-6 seviyesi değerlendirildiğinde, beta glukana verilen grupta sepsis grubuna göre ilk 8 saatte IL-6 salınımında artış saptandı. Beta glukana sefazolinle birlikte uygulandığında ise IL-6 artışının ilk 8. saatte en yüksek düzeye ulaştığı görüldü.

Sonuç: Beta glukan deneysel intraabdominal sepsis modelinde TNF- α , IL-1 üretimini baskılamadığı, IL-6, IFN- γ salınımını ise özellikle ilk saatlerde arttırdığı saptandı. Bu sonuçlara göre sepsis tedavisinde beta glukan kullanımının yararı konusunda anlamlı bilgilere ulaşılamadı.

Anahtar Kelimeler: Sepsis, beta glukan, sitokinler,

VIII. SUMMARY

THE STUDY OF IMMUNE MODULATOR EFFECT OF THE BETA GLUCAN IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF INTRAABDOMINAL SEPSIS FORMED BY *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Introduction: The purpose of this study is to investigate the immune modulator effect of beta glucan in an experimental model of intraabdominal sepsis formed by *S. aureus*.

Materials and Methods: Thirty Wistar albino rats were randomly divided into five groups. Sepsis, treatment with cefazolin, treatment with beta glucan, treatment with both cefazolin and beta glucan, and control groups were constituted respectively. 4 mg/kg beta glucan and 100 mg/kg cefazolin were given after 12×10^8 cfu/ml 1 cc *S. aureus* was given intraabdominally. After two hours, 0.5 cc blood was drawn and put into blood culture bottles. Levels of TNF- α , IL-1, IL-6, and IFN- γ were evaluated after 4th, 6th and 8th hours.

Results: According to the biochemical analyses, beta glucan increased the level of IFN- γ at 4th hour, but did not at 6th and 8th hours. This increase became more apparent at 6 th hour when it was given with cefazolin. However IFN- γ levels were higher in the group which cefazolin was given than beta glucan was. As the level of serum TNF- α was evaluated, it was found to be higher in the group which beta glucan was given although there was a supression at 8th hour than the sepsis group. Serum IL-1 levels were higher at 4th, 6th and 8th hours in the group beta glucan was given than the sepsis group. Although a decline in IL-1 level was detected in the group which cefazolin was added to beta glucan at 8th hour, this level was found to be higher than the sepsis group. As the level of IL-6 was evaluated, an increase in release of IL-6 was found in the group beta glucan was given in the first 8 hours when it was compared with sepsis group. When beta glucan was given with cefazolin, it was observed that IL-6 increased to the highest level at 8th hour.

Conclusion: In the experimental intraabdominal sepsis model, beta glucan didnot supress the production of TNF- α and IL-1, and increased the release of IL-6 and IFN- γ especially in the first hours. According to these results, significant knowledge (information) about usage of beta glucan in treatment of sepsis couldn't be achieved.

Key Words: Sepsis, beta glucan, cytokines

IX. KAYNAKLAR

1. Matot I, Sprung CL. Definition of sepsis. *Intensive Care Med* 2001; 27: 3-9.
2. Heyland DK, Hopman V, Coe H, Tranmer J, McColl MA. Long term health related quality of life in survivors of sepsis. *Crit Care Med* 2000; 28: 3599-3605.
3. Holub M, Kluckova Z, Beneda B. Changes in lymphocytes subpopulations and CD3/DR expression in sepsis. *Clin Microbiol Infect* 2000; 6: 657-660.
4. Tsiotou AG, Sakorafas GH, Anagnostopoulos G, Bramis J. Septic shock; current pathogenetic concepts from a clinical perspective. *Med Sci Monit* 2005; 11: 76-85.
5. Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med* 2006; 355: 1699-1713.
6. Nguyen HB, Rivers EP, Abrahamian FM, et al. Severe sepsis and septic shock: review of the literature and emergency department management guidelines. *Ann Emerg Med* 2006; 48: 28-54.
7. James K. Cellular and humoral mediators of inflammation. *Clinical Laboratory Medicine*. McClatchey KD (ed): Lippincott Williams and Wilkins & Philadelphia 2002, 1426-1447.
8. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: *Medical Microbiology*. Mosby, Missouri, 2002; 91-146.
9. Howell G, Tisherman SA. Management of Sepsis. *Surg Clin North Am* 2006; 86: 1523-1539.
10. Carrow DJ. Beta-1,3-Glucan as a primary immune activator. *Townsend Letter June* 1996;6; 84-91
11. Fink MP, O' Sullivan B, Menconi MJ, et al. Effect of granulocyte colony-stimulating factor on systemic and pulmonary responses to endotoxin in pigs. *J Trauma* 1993; 34: 571-578.
12. Mohagheghur N, Dawson M, Hobbs P, et al. Glucans as immunological adjuvants. *Adv Exp Med Biol* 1995; 383: 13-22.

13. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference, *Crit Care Med*, 2003; 31: 1250-1256
14. Fenton KE, Parker MM. Severe Sepsis: Recent Advances in Management and the Need to do More. *Advances in Sepsis* 2003; 3: 75-82.
15. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR, Epidemiology of severe sepsis in the United states: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29: 1303-1310.
16. Weycker D, Akhras KS, Edelsberg J, Angus DC, Oster G. Long-term mortality And medical care charges in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 2003; 31: 2316-2323
17. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Eng J Med* 2003; 348: 138-150.
18. Vincent JL, Korkut HA. Sepsis definitions. *Clin Chest Med* 2008; 29: 585-590.
19. Munford RS. Sepsis, severe sepsis and septic shock. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds.) *Principles and Practice of Infectious Disease*. New York: Churchill Livingstone, 6. Baskı. 2005; 906-926.
20. Mehmet D. Sepsis. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Eds. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Nobel Kitabevi. 3. baskı. İstanbul: 2008; 877-896.
21. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. ACCP/SCCM Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 1992; 101:1644-1655.
22. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. American College of Critical Care Medicine Consensus Conference: definition for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20: 864-874.
23. Marshall JC, Cook DC, Christou NV, et al. Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome. *Crit Care Med* 1995; 23: 1638-1652.

24. Ferreira FL, Bota DP, BrossA, et al. Serial evaluation of SOFA score to predict outcome in critically ill patients. JAMA 2002; 286: 1754-1758.
25. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. Intensive Care Med 2002; 28: 102-121.
26. Povoia P. C-reactive protein: A valuable marker of sepsis. Intensive Care Med 2002; 28: 235-243.
27. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL. Sepsis in European intensive care units: results of SOAP study. Crit Care Med 2006; 34: 344-353.
28. Öncü S. Sepsisi tanıyor muyuz ?. ANKEM Derg 2006; 20: 40-41.
29. Bone RC. Gram-positive organisms and sepsis. Arch Intern Med 1994; 154: 26-34.
30. Peters K, Urgan RE, Brunner J, Kirkpatrick CJ. Molecular basis of endothelial dysfunction in sepsis. Cardiovasc Res 2003; 60: 49-57.
31. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. Nature 2002; 420: 885-891.
32. Çağatay AA. Sepsis gelişimini kolaylaştıran faktörler ve sepsis patogenezi. ANKEM Derg 2006; 20: 43-46.
33. Yorgancı K. Sepsis patofizyolojisi. Yoğun Bakım Dergisi 2005; 5: 80-84.
34. Baykal Y. MOYS da nötrofillerin rolü. Sepsiste yeni ufuklar. ed: Erikçi S. 2007; 14-24
35. Vincent JL: Sepsis: The systemic inflammatory response. In: Critical Care. The Requisites in Anesthesiology. (Eds): Papadacos PJ, Szalados JE. Elsevier/Mosby, 2005: 3-10.
36. Shanley TP, Hallstrom C, Wong HR. Sepsis. In: Fuhrman BP, Zimmerman JJ (eds): Pediatric Critical Care(3rd ed), Philadelphia: Mosby, 2006: 1474-1493.
37. Panacek E, Kaul M. IL6 as a marker of excessive TNF α activity in sepsis. Sepsis 1999; 3: 65-73.
38. Reinhart K, Bloos F, Brunkhorst FM: Pathophysiology of sepsis and multiple organ dysfunction. Fink MP, Abraham E, Vincent J-L, Kochanek PM. Eds. Fifth edition. Elsevier-Saunders, Philadelphia, 2005: 1249-1258.

39. Dhainaut JF, Yan BS, Cariou A, Mira JP. Soluble thrombomodulin, plasma-derived unactivated protein C, and recombinant human activated protein C in sepsis. *Crit Care Med* 2002; 30: 318-324.
40. Charles T. The Protein C Pathway. *Chest* 2003; 124: 26-32
41. Faust SN, Levin M, Harrison OB, et al. Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis. *N Engl J Med* 2001; 345: 408-416.
42. Reideman NC, Guo RF, Ward PE. The enigma of sepsis. *J Clin Invest* 2003; 112: 460-467,
43. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, et al: Surviving sepsis campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32: 858-873.
44. Bourboulis E, Routsis C, Plachouras D et al. Early apoptosis of blood monocytes in the septic host: is it a mechanism of protection in the event of septic shock. *Critical Care* 2006; 10
45. Hotchkiss R, Osmon S, Chang KC, Wagner TH. *The J. Immunol* 2005; 174: 5110-5118.
46. Kılıç D. Sepsis patogenezi. Sepsis ve Tedavisi: Enfeksiyon Hastalıkları Tedavi Dizisi-7. Arman D, Uzun Ö. (ed). Bilimsel tıp yayınevi, Ankara 2004; 19-31.
47. Uzun Ö. Sepsis. In: Uzun Ö, Ünal S. (ed). *Güncel Bilgiler Işığında Enfeksiyon Hastalıkları*. Ankara Bilimsel Tıp Yayınevi. 2002; 613-623.
48. Morgan G.E, Mikhail M.S, Murray M.J, Larson J.P. Sepsis. In: Tulunay M, Cuhruk H.(eds): *Klinik Anesteziyoloji*. Ankara, Güneş kitabevi 3. baskı, 2004; 979-994
49. Lynn WA. Sepsis. In: Armstrong D, Cohen J. Eds. *Infectious Diseases*. London: Mosby; 2004: 613-627.
50. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, et al. Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) study group Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis, *N Engl J Med* 2001; 344: 699-709

51. Harris RL, Musher DM, Bloom K, et al. Manifestation of sepsis. Arch Intern Med 1987; 147: 1895-1906.
52. Jui J, Septik Shock. In: Tintinalli J.E.(eds): Emergency Medicine 6th Edition, USA, , 2004; 231-241
53. Dellinger R.P. Inflammation and coagulation: implications for the septic patient, CIM Infect Dis, 2003; 36: 1259-1265
54. Sevransky J, Nour S, Susla G, Georas S. Recent Advance in the Treatment of Septic Shock. Contemp Crit Care 2005; 2: 1-10
55. Van Cott EM, Laposata M. Coagulation, fibrinolysis and hypercoagulation. In: Henry JB (ed). Clinal Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Pennsylvania: W.B Saunders Company, 2001: 642-659
56. Karabey S. Hastane Enfeksiyonlarının Sürveyansı. Doğanay M, Ünal S Hastane Enfeksiyonları. Ankara Bilimsel Tıp Derg 2003: 165-193
57. Mitaka C. Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. Clinica Chimica Acta 2005; 351: 17-29.
58. Balcı C, Sungurtekin H, Gürses E, Kaptanoğlu B. Usefulness of procalcitonin for diagnosis of sepsis. Critical Care 2003; 7: 85-90
59. Llewelyn MJ, Cohen J. Tracking the microbes in sepsis: advancements in treatment bring challenges for microbial epidemiology. Healthcare Epidemiology. CID 2007; 44: 1343-1348
60. Cohen J, Brun-Buisson C, Torres A, Jorgensen J. Diagnosis of infection in sepsis: an evidence-based review. Crit Care Med 2004; 32: 466-494.
61. Vincent JL, Opal S, Torres A, Bonten M, Cohen J, Wunderink R. The PIRO concept: I is for infection. Critical Care 2003; 7: 252-255.
62. Vidaur L, Rodriguez A, Rello J. Antibiotic therapy for sepsis, severe sepsis, and septic shock: The “Tarragona” strategy. In: Vincent JL (ed) Year Book of Intensive Care and Emergency Medicine 2004, Springer Verlag, Berlin, 2005: 229-241.

63. Topeli İskit A. Sepsisli hastanın yoğun bakım ünitesinde izlemi ve tedavisi. Arman D, Uzun Ö. (eds). Sepsis ve tedavisi: Enfeksiyon Hastalıkları Tedavi Dizisi-7. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2004; 91-98.
64. Hanna FH. Sepsis and septic shock. Top Emerg Med 2003; 25: 158-165.
65. Carcillo JA, Han K, Lin J, Orr R: Goal-directed management of pediatric shock in the emergency department, Clin Ped Emerg Med 2007; 8: 165-175.
66. Irazuzta JE, Sullivan KJ, Garcia PCR, Piva JP: Pharmacologic support of infants and children in septic shock, J Pediatr (Rio J) 2007; 83: 36-45.
67. Aygen B. Sepsiste Antimikrobiyal Tedavi ilkeleri. Arman D, Uzun Ö. (eds). Sepsis ve Tedavisi: Enfeksiyon Hastalıklarında Tedavi Dizisi-7. Bilimsel tıp yayınevi, Ankara 2004: 99-106.
68. Fish DN. Optimal antimicrobial therapy for sepsis. Am J Health Syst Pharm 2002; 59: 13- 19.
69. Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. N Engl J Med 2003; 340: 207-214.
70. Nadel S, Goldstein B, Williams MD et al. Drotrecogin alfa (activated) in children with severe sepsis. A multicentre phase III randomised controlled trial, Lancet 2007; 369: 836-843.
71. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock 2008, Crit Care Med 2008; 36: 296-327.
72. Akalın H. Sepsis Sendromu. Dündar İH. (Ed). Current Enfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul 2004; 231-239.
73. Faustino EV, Apkon M. Persistent hyperglycemia in critically ill children, J Pediatri 2005; 146: 30-34.
74. Branco RG, Garcia PC, Piva JP et al. Glucose level and risk of mortality in pediatric septic shock, Pediatr Clin Care Med 2005; 6: 470-472.
75. Çelikel T. Sepsis: Genel bakış. Yoğun Bakım Dergisi 2005; 5: 73-74.
76. Moreillon P, Que YA, Glauser MP. Staphylococcus aureus (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds).

Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed, Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2321-2360.

77. Winn WC, Allen SD, Koneman EW, et al. Gram Positive Cocci. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology Lippincott William and Wikins, Philadelphia, New York, 2006; 624-662.
78. Peacock S. Staphylococcus aureus. Gillespie SH, Hawkey PM, (eds). Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2nd Ed West Sussex, England: Wiley; 2006; 73-99.
79. Murray PR, Boron EJ, Pfaller MA, (Eds). Gram Positive Cocci: Staphylococcus, Micrococcus and Other Catalase Positive Cocci. That Grow Aerobically Manuel of Clinical Microbiology. ASM Pres, Washington DC. 2003; 384-404.
80. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, (eds). Staphylococcus and Related Organisms. Medical Microbiology 5th ed Pennsylvania: Elsevier Mosby; 2005; 323-338.
81. Kaynar H, Yılmaz N, Saglam L, et al. Hastane kökenli pnömoni olgularında etkenler ve antibiyotik duyarlılıkları. Toraks Dergisi 2004; 52: 333-340.
82. Lowy F.D. Staphylococcus aureus infections. N Engl J Med 1998; 339: 520-532
83. Brooks GF, Butel JS, Morse SA: The Staphylococci. Medical Microbiology. Stamford: Appleton Lange, 1998: 197-202.
84. Verhoef J, Fluit AC, Schmitz FJ: Staphylococci and other Micrococcaceae. In Cohen J, Powderly WG (eds). Infectious Diseases. 2nd ed, Philadelphia: Elsevier Limited, 2004: 2119-2132.
85. Brown Derek F. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). J Antimicrob Chemother 2005; 56: 1000-1018.
86. Pottumarthy S, Fritsche TR, Jones RN. Evaluation of alternative disk diffusion methods for detecting mecA-mediated oxacillin resistance in an international collection of staphylococci: Validation report from the

SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diag Microbiol Infect Dis* 2005; 51: 57-62.

87. Graninger W, Wenisch C, Hasenhüendl M. Update in staphylococcal infections, treatment of staphylococcal infections. *Curr Opin Infect Dis* 1995; 8: S20-S28.
88. Peters G, Becker K. Epidemiology, control and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Drugs* 1996; 52: S50-S54.
89. Proctor RA, Bates DM, McNamara PJ. Electron transport-deficient *Staphylococcus aureus* small-colony variants as emerging pathogens. In: Scheld WM, Craig WA, Hughes JM, eds. *Emerging infections 5*. Washington, DC: ASM Press, 2001: 95-110.
90. Pittet D. Nosocomial bloodstream infections. In: Wenzel RP (ed). *Prevention and Control of Nosocomial Infections*. Third edition, Williams and Wilkins, Baltimore 1997; 711-769.
91. Kim SY, Song HJ, Lee YY, et al. Biomedical Issues of Dietary fiber beta Glucan. *J Korean Med Sci* 2006; 21: 781-789.
92. Kirmaz C, Bayrak P, Yilmaz O, et al. Effects of glucan treatment on the Th1/Th2 balance in patients with allergic rhinitis: a double-blind placebo-controlled study. *Eur Cytokine Netw* 2005; 16: 128-134.
93. Hendler SS, Rorvik D. *PDR for Nutritional Supplements*. Thomson Healthcare 2001: 54
94. Tzianabos AO. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 523-533.
95. Zykova SN, Jenssen TG, Berdal M, et al. Altered cytokine and nitric oxide secretion in vitro by macrophages from diabetic type II-like db/db mice. *Diabetes* 2000; 49: 1451-1458
96. Breivik T, Opstad PK, Engstad R, et al. Soluble Beta-1,3/1,6-glucan from yeast inhibits experimental periodontal disease in Wistar rats. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 347-352.

97. Yun CH, Estrada A, Van Kessel A, Park BC, Laarveld B. Beta -glucan, extracted from oat, enhances disease resistance against bacterial and parasitic infections. *FEMS Immunol and Med Microbiol* 2003; 35: 67-75.
98. Brown GD, Gordon S. Fungal β -Glucans and Mammalian Immunity. *Immunity* 2003; 19: 311-315.
99. Williams DL, Mueller A, Browder W, Glucan-based macrophage stimulators: A review of their anti-infective potential. *Clin Immunother* 1996; 5: 392-399.
100. Brown GD, Herre J, Williams DL, Willment JA, Marshall AS, Gordon S, Dectin-1 mediates the biological effects of beta-glucans. *J Exp Med* 2003; 197: 1119-1124.
101. Hetland G, Sandev P. B-1,3-glucan reduces growth of *Mycobacterium tuberculosis* in macrophage cultures. *FEMS Immunol and Med Microbiol* 2002; 33: 41-45
102. Sandvik A, Wang Y. Oral and systemic administration of beta-glucan protects against lipopolysaccharide-induced shock and injury in rats. *Clinical and Experimental Immunology* 2007; 148: 168-177
103. Sherwooder ER, Varma TK, Fram RY, Lin CY, Koutrouvelis AP, Toliver-Kinsky TE. Glucan phosphate potentiates endotoxin-induced interferon- γ expression in immunocompetent mice, but attenuates induction of endotoxin tolerance. *Clinical Science* 2001; 101: 541-550
104. Tulunay M. Sepsis ve ilişkili durumların tanımlamaları. *Yogun Bakım Derneği Dergisi* 2005;1:117-126
105. Cinel İ. Sepsiste patojenik mekanizmalar. *Yogun Bakım Derneği Dergisi* 2005;1:127-139
106. Lopez A, Lorente JA, Steingrub J, et al. Multiple-center, randomized, placebo-controlled, double-blind study of the nitric oxide synthase inhibitor 546C88: Effect on survival in patient with septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32: 21-30
107. Parker SJ, Watkins PE. Experimental models of gram-negative sepsis. *Br J Surg* 2001; 88: 22-30.

108. Bojorquez L, Gustavo D, Gustavo T. Molecular mechanisms involved in the pathogenesis of septic shock. *Archives of Medical Research* 2004; 35: 465-479.
109. Wollenberg GK, DeForge LE, Bolgos G, Remick DG. Differential expression of tumor necrosis factor and interleukin-6 by peritoneal macrophages in vivo and in culture. *Am J Pathol* 1993; 143:1121–1130.
110. Mueller A, Raptis J, Rice PJ, et al. The influence of glucan polymer structure and solution conformation on binding to (1-3)-beta D-glucan receptors in a human monocyte-like cell line. *Glycobiology* 2000; 10: 339-346
111. Kubala L, Ruzickova J, Nickova K, Sandula J, Ciz M, Lojeka. The effect of (1-3) -beta- D- glucans, carboxymethylglucan and schizophyllan on human leukocytes in vitro. *Carbohydr Res* 2003; 338: 2835-2840
112. Xiao Z, Trincado CA, Murtaugh M.P. β -glucan enhancement of T cell $\text{INF}\gamma$ response in swine. *Vet Immunol Immunopathol* 2004; 102: 315-320.
113. Herre J, Gordon S, Brown G.D, Dectin-1 and its role in the recognition of β -glucans by macrophages. *Mol Immunol* 2004; 40: 869-876
114. Brown GD, Taylor PR, Reid DM, et al. Dectin-1 is a major beta glucan receptor on macrophages. *J Exp Med* 2002; 196: 407-412.
115. Blackwell TS, Christman JW. Sepsis and cytokines. *Br J Anaesth* 1996; 77: 110-117.
116. Soltys J, Quinn MT. Modulation of endotoxin- and enterotoxin-induced cytokine release by in vivo treatment with beta-(1,6)-branched beta-(1,3)-glucan. *Infect Immun* 1999; 67: 244–252.
117. Sener G, Toklu H, Ercan F, Erkanı G. Protective effect of beta glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. *Int Immunopharmacol* 2005; 5: 1387-1396.
118. Toklu HZ, Sener G, Jahovic N, Uslu B, Arbak S, Yegen BC. Beta glucan protects against burn-induced oxidative organ damage in rats. *Int Immunopharmacol* 2006; 6: 156–169.

119. Bedirli A, Kerem M, Pasaoglu H, et al. Beta-glucan attenuates inflammatory cytokine release and prevents acute lung injury in an experimental model of sepsis. *Shock* 2007; 27: 397-401
120. Peters K, Unger RE, Brunger J, Kirkpatrick CJ. Molecular basis of endothelial dysfunction in sepsis. *Cardiovascular Research* 2003; 60: 49-57.
121. Wakshull E, Brunke-Reese D, Lindermuth J *et al.* PGG-glucan, a soluble [beta]-(1,3)-glucan, enhances the oxidative burst response, microbicidal activity, and activates an NF-[kappa]B-like factor in human PMN. Evidence for a glycosphingolipid [beta]-(1,3)-glucan receptor. *Immunopharmacology* 1999; 41:89–107.
122. Lyuksutova OI, Murphey ED, Toliver-Kinsky TE, Lin CY, Cui W, Williams DL, Sherwood ER: Glucan phosphate treatment attenuates burn-induced inflammation and improves resistance to *Pseudomonas aeruginosa* burn wound infection. *Shock* 2005; 23:224-232.
123. Meisner M. Biomarkers of sepsis: clinically useful? *Curr Opin Crit Care* 2005; 11: 473–480.
124. Engstad CS, Engstad RE, Olsen JO, Osterud B. The effect of soluble beta-1,3-glucan and lipopolysaccharide on cytokine production and coagulation activation in whole blood. *Int Immunopharmacol* 2002; 2:1585–1597.
125. Babayiğit H, Kucuk C, Sozuer E, Yazici C, Kose K, Akgun H. Protective effect of beta-glucan on lung injury after cecal ligation and puncture in rats. *Intensive Care Med* 2005; 31: 865-870.