



T.C. Sağlık Bakanlığı

**Halk Sağlığı
Genel Müdürlüğü**

Viral Enfeksiyonların Tanısı

Uzm. Dr. Dilek MENEMENLİOĞLU

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı

Ulusal Arbovirüs ve Viral Zoonotik Hastalıklar Laboratuvarı

SSS Enfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı:

- ✓ Erken / zamanında
- ✓ Doğru
- ✓ Güvenilir – Kanıta dayalı tanı

★ Etkin ve hedefe yönelik tedavi

★ Gereksiz ampirik tedavi

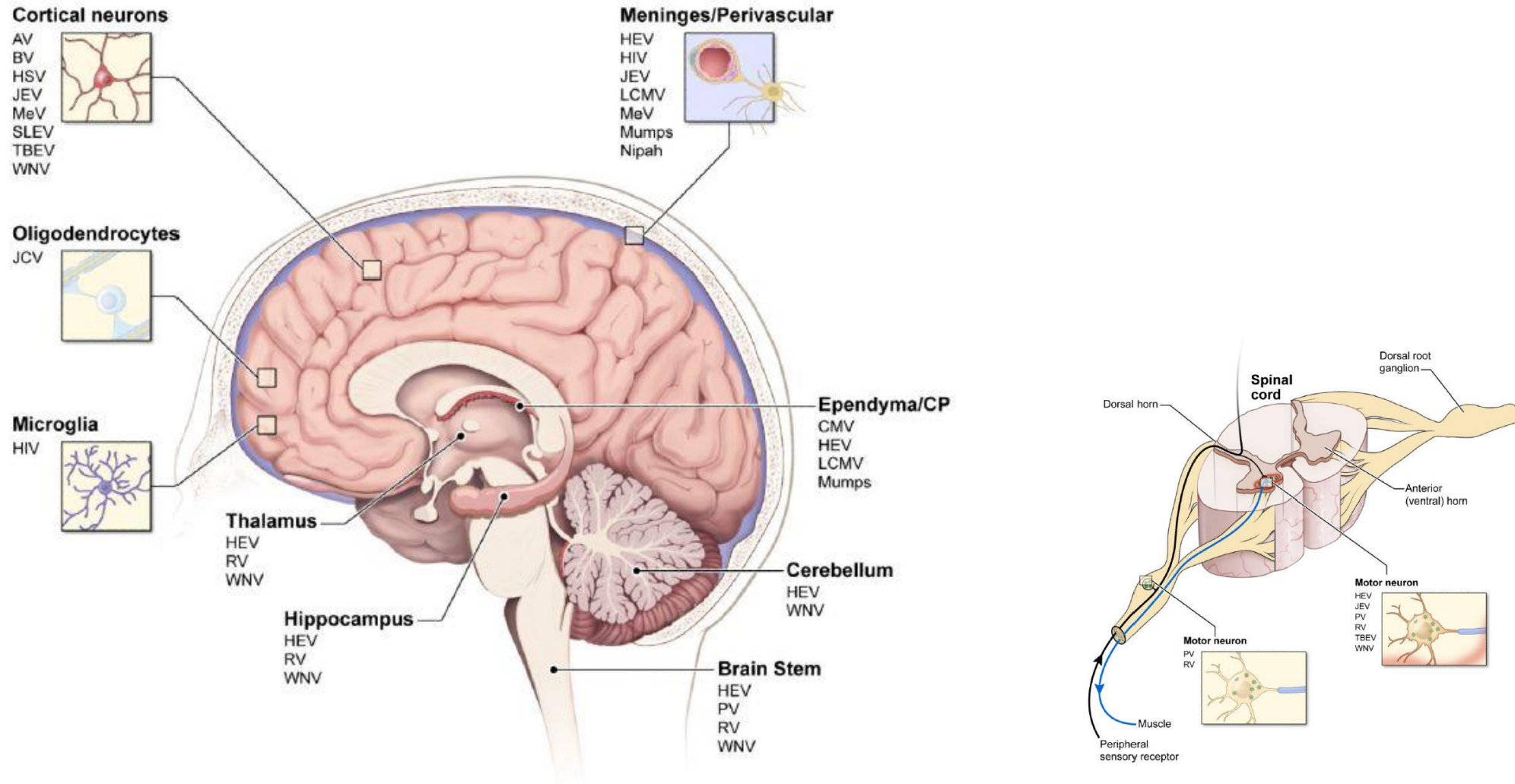
★ Gereksiz laboratuvar testleri

SSS Enfeksiyonları:

Ön tanı;

- ✓ Başlangıç semptom ve bulgular???
- ✓ Mevsim
- ✓ Coğrafi bölge – Seyahat öyküsü / Açık alan gezileri
- ✓ Mesleki maruziyet
- ✓ Yaş, altta yatan sebepler
- ✓ Epidemiyoloji ve risk faktörleri
- ✓ Enfeksiyonun patogenezi
- ✓ Ajan patojenin virülansı
- ✓ Tutulan anatomik bölge

SSS Enfeksiyonları- Anatomik bölgeler/Nörolojik bulgular:



Swanson PA II McGavern DB: Curr Opin Virol. 2015 April ; 11: 44–54.

SSS Enfeksiyonları Ön Tanı - Bulgular:

Klinik Bulgu	Olası Viral Ajan Patojen
LAP	HIV, EBV, CMV, MeV, RuV, BNV
Parotit	Kabakulak virüsü
Döküntü	VZV, HHV-6, BNV, RuV, EV, HIV
Solunum Yolu Bulguları	Influenza, Adenovirüs, VEE, Nipah, Hendra
Retinit	CMV, BNV
İdrar Yolu Semptomları	SLE
Serebellar Ataksi	VZV, EBV, Kabakulak virüsü, SLEV
Kraniyel Sinir Anomalileri	HSV, EBV
Demans	HIV, SSPE
Parkinsonizm	JEV, SLEV, BNV, Nipah
Poliyomiyelit benzeri flask paralizi	JEV, BNV, KKE, EV (EV-71, coxsackiev), poliovirus
Rombensefalit	HSV, BNV, EV-71

SSS Enfeksiyonları Ön Tanı - Bulgular:

TABLE 78.3 Skin/Mucous Membrane Findings Suggesting Specific Viral Central Nervous System Diseases

Exanthem or mucous membrane change	Viral agent	Specific changes
Vesicular eruption	Enterovirus Herpes simplex Varicella-zoster virus	“Hand, foot, and mouth disease”: Macules/papules/vesicles on palms, soles, buttocks Grouped small (3 mm) vesicles on an erythematous base Zoster: Vesicles in dermatomal distribution Primary VZV: Multiple vesicles, papules, pustules in various stages of eruption
Maculopapular eruption	Epstein-Barr virus Measles HHV-6 Colorado tick fever LCMV WNV	Diffuse maculopapular eruption following ampicillin treatment Diffuse maculopapular erythematous eruption beginning on face/chest and extending downward Roseola: Diffuse maculopapular eruption following 4 days of high fever Maculopapular rash in 50% Occasionally occurs with lymphadenopathy Diffuse erythematous macular rash on chest and arms
Erythema multiforme	(<i>Mycoplasma</i>)	Many types of rash
Confluent macular rash	Parvovirus	Confluent erythema over cheeks (“slapped cheeks”) followed by lacy reticular rash over extremities (late)
Purpura	Parvovirus	Rare “stocking glove” syndrome: Purpuric lesions on distal extremities
Pharyngitis	Enterovirus Adenovirus	Herpangina: Vesicles on soft palate Pharyngoconjunctivitis
Conjunctivitis	St. Louis encephalitis Adenovirus	Conjunctivitis Conjunctivitis with pharyngitis (see above)
HHV-6, Human herpesvirus type 6; LCMV, lymphocytic choriomeningitis virus; VZV, varicella-zoster virus; WNV, West Nile virus.		

SSS Enfeksiyonları Ön Tanı - Bulgular:

TABLE 78.4 Other Specific Findings Associated with Viruses Causing Central Nervous System Disease

Finding	Viruses	Finding	Viruses
Alopecia	LCMV	Orchitis/oophoritis	Mumps (LCMV, EBV)
Arthritis	LCMV, parvovirus	Paresthesias	Colorado tick fever, LCMV, rabies
Biphasic illness	LCMV, Colorado tick fever	Parotitis	Mumps (LCMV)
Lymphadenopathy	LCMV, mumps	Pneumonia	Influenza, parainfluenza
Mastitis	Mumps	Retinitis	CMV
Mononucleosis	CMV, EBV	Tremors, myoclonus	Arbovirus (e.g., WNV)
Myelitis	WNV, St. Louis encephalitis virus, VZV, herpes B virus, LCMV	Urinary problems	St. Louis encephalitis virus, VZV, herpes B virus, LCMV
Myocarditis/pericarditis	Enterovirus, (mumps, LCMV)		
CMV, Cytomegalovirus; EBV, Epstein-Barr virus; LCMV, lymphocytic choriomeningitis virus; VZV, varicella-zoster virus; WNV, West Nile virus.			

SSS Enfeksiyonları Ön Tanı – Görüntüleme Bulguları:

NEUROIMAGING FEATURES

Frontal lobe—*Naegleria fowleri* testing (CSF wet mount and PCR^g)

Temporal lobe—VGKC antibodies (serum and CSF); HHV 6/7 PCR (CSF)

Basal ganglia and/or thalamus—Arbovirus^d testing; MTB testing^a

Brainstem—Arbovirus testing^d; *Listeria* PCR(if available); *Brucella* antibody (serum); MTB testing^b

Cerebellum—EBV PCR (CSF) and serology

Diffuse cerebral edema—Respiratory virus testingⁱ

Space occupying and/or ring-enhancing lesions—MTB testing^b; fungal testing^c; *Balamuthia mandrillaris* and *Acanthamoeba* testing^g; *Toxoplasma* serology

Hydrocephalus and/or basilar meningeal enhancement—MTB testing^b; fungal testing^c

Infarction or hemorrhage—MTB testing^b; fungal testing^c; respiratory virus testingⁱ

Case Definitions, Diagnostic Algorithms, and Priorities in Encephalitis: Consensus Statement of the International Encephalitis Consortium

A. Venkatesan,¹ A. R. Tunkel,² K. C. Bloch,^{3,4} A. S. Luring,⁵ J. Sejvar,⁶ A. Bitnun,⁷ J-P. Stahl,⁸ A. Mailles,⁹ M. Drebot,¹⁰ C. E. Rupprecht,¹¹ J. Yoder,¹² J. R. Cope,¹³ M. R. Wilson,^{13,14} R. J. Whitley,^{15,16,17} J. Sullivan,¹⁹ J. Granerod,²⁰ C. Jones,^{21,22} K. Eastwood,²³ K. N. Ward,^{20,24} D. N. Durrheim,^{25,26} M. V. Solbrig,²⁷ L. Guo-Dong,²⁸ and C. A. Glaser,²⁹ on behalf of the International Encephalitis Consortium

SSS Enfeksiyonları Ön Tanı - Etiyoloji:

Table 1. Viral causes of encephalitis.^a

VIRAL PATHOGEN	PROPORTION OF TOTAL CASES
Herpes simplex virus	11%–22%
Varicella zoster virus	4%–14%
Enterovirus	1%–4%
Arboviruses (Japanese encephalitis virus, West Nile virus [WNV], tick-borne encephalitis virus [TBEV], Murray Valley encephalitis virus, St Louis encephalitis virus, La Crosse encephalitis virus [LCEV], Zika virus [ZIKV])	Varies by location and season North America: WNV and LCEV Europe: TBEV, WNV Americas and Eastern Asian Island chains: ZIKV (rare, even in current 2015-2016 outbreak)
Other herpes viruses (EBV, HHV-6, CMV)	Rare, except in immunocompromised hosts
John Cunningham virus (PML)	Only in immunocompromised
Respiratory viruses (influenza, adenovirus)	Rare, except during outbreaks
Rabies	Rare
Mumps, measles	Rare

Abbreviations: CMV, cytomegalovirus; HHV-6, human herpesvirus 6; EBV, Epstein-Barr virus; PML, progressive multifocal leukoencephalopathy.

^aUnknown cause: 37% to 70% of cases.

SSS Enfeksiyonları Tanı - Algoritmalar:

Table 2

Core diagnostic testing algorithm for the Emerging Infections Program Encephalitis Project, 1997–2010*

Pathogen	Specimen type	Test type	Seasonality
Viruses			
Adenovirus	NP swab	PCR	Year-round
Arbovirus panel†	Serum	Serology	May–October
Enteroviruses	CSF	PCR	Year-round
	NP swab	PCR	Year-round
	Rectal swab	PCR	Year-round
Epstein-Barr virus	CSF	PCR	Year-round
	Serum	Serology	Year-round
Herpes simplex virus 1 and 2	CSF	PCR	Year-round
Human herpesvirus 6	CSF	PCR	Year-round
Influenza virus A and B	NP swab	PCR	November–April
Parainfluenza virus 1–3	NP swab	PCR	November–April
Rotavirus	Rectal swab	Antigen	November–April
Varicella zoster virus	CSF	PCR	Year-round
West Nile virus	CSF	Serology	May–October
	Serum	Serology	May–October



Encephalitis Surveillance through the Emerging Infections Program, 1997–2010

Karen C. Bloch, Carol A. Glaser

Ulusal Mikrobiyoloji Standartları – Tanı Rehberi:



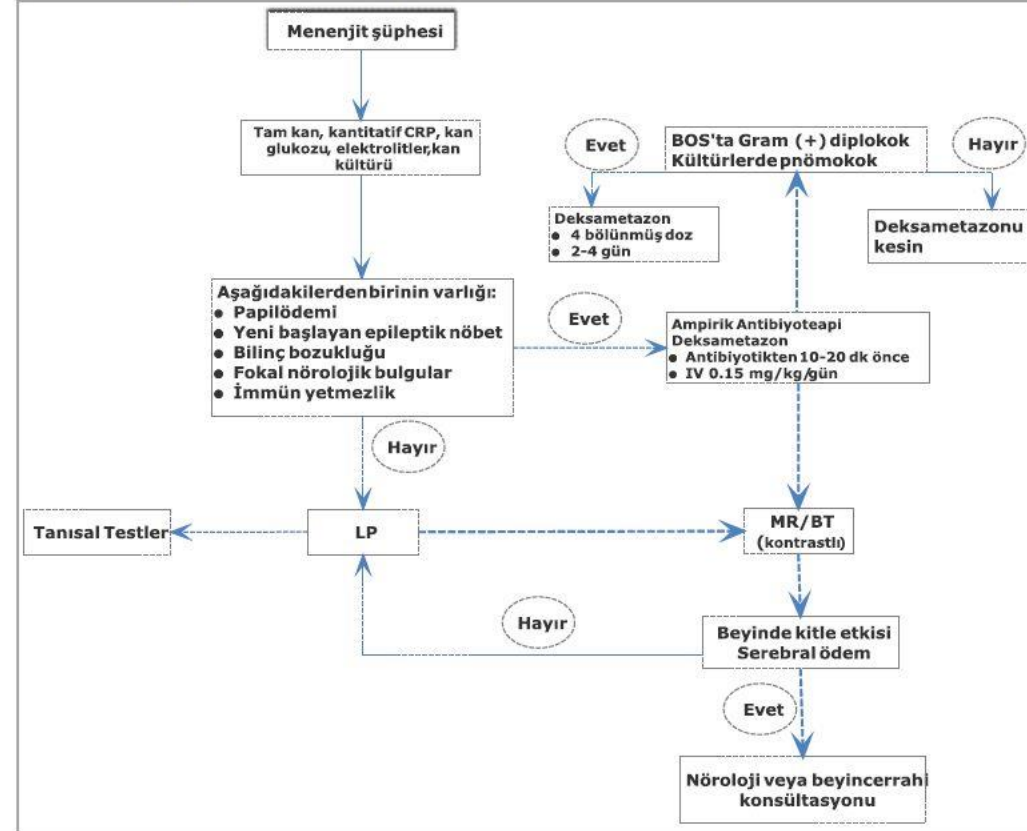
- ✓ Standardizasyon
- ✓ Güvenilir
- ✓ Doğru
- ✓ Zamanında

Sendromik Tanı Yaklaşımı

- Akut gastroenterit
- Akut respiratuvar sendrom
- Akut hemolitik sendrom
- Akut nörolojik sendrom
- Akut hemolitik sendrom

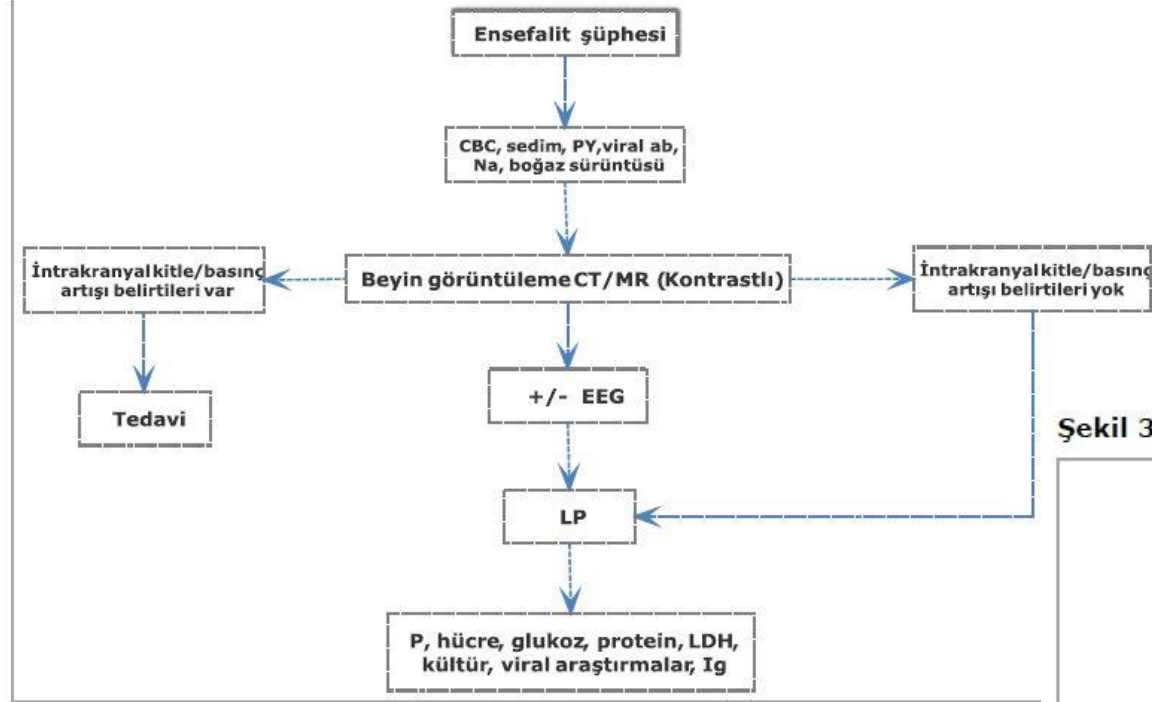
Ulusal Mikrobiyoloji Standartları – Tanı Rehberi:

Şekil 1. Menenjit klinik yaklaşım algoritması (11,12).

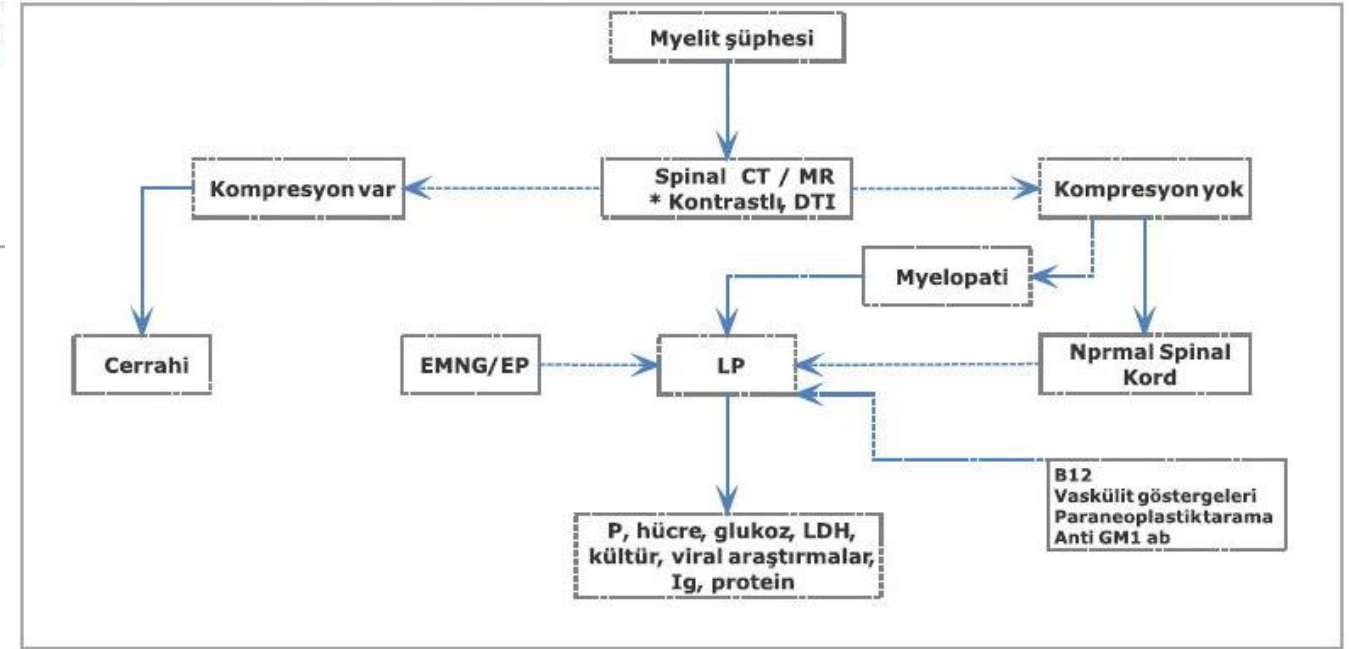


Ulusal Mikrobiyoloji Standartları – Tanı Rehberi:

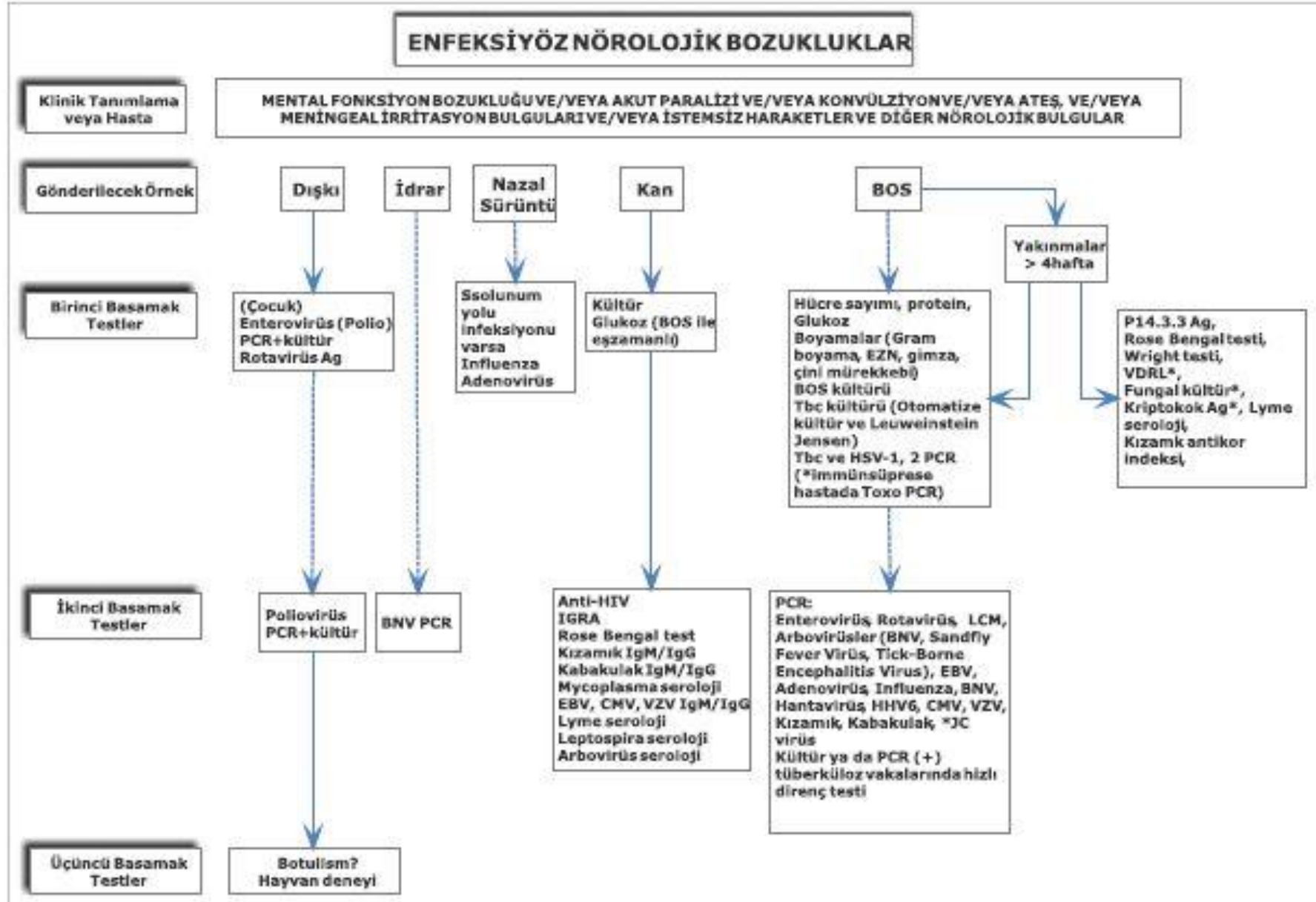
Şekil 2. Ensefalit klinik yaklaşım algoritması



Şekil 3. Myelit klinik yaklaşım algoritması



Ulusal Mikrobiyoloji Standartları – Tanı Rehberi:



Klimud Rehberler – Steril Vücut Sıvıları



**KLİNİK MİKROBİYOLOJİ UZMANLIK DERNEĞİ**

Ana Sayfa

Site İçi Arama

Ara

TR

UK

Eğitim Materyalleri

Kongre & Toplantı Sunumları

Rehberler

Videolar

Bilgi Notları

Atlaslar

Kendini Sınama Modülleri

Geri Dön!

Rehberler

Deri,Deri Ekleri,Yumuşak Doku Örnekleri-Göz Örnekleri Rehberi (2015)

Gastrointestinal Sistem Örnekleri Rehberi (2017)

Genital Sistem Örnekleri Rehberi (2015)

Kan Dolaşımı Örnekleri (Kan Kültürü) Rehberi (2017) ve Kan Kültürü Uygulama Kılavuzu (2013)

Otoantikorların Laboratuvar Tanısı Rehberi (2015)

Solunum Sistemi Örnekleri Rehberi (2015)

Steril Vücut Sıvıları Örnekleri Rehberi (2015)

Üriner Sistem Örnekleri Rehberi (2015)

THSK Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Rehberleri

fb

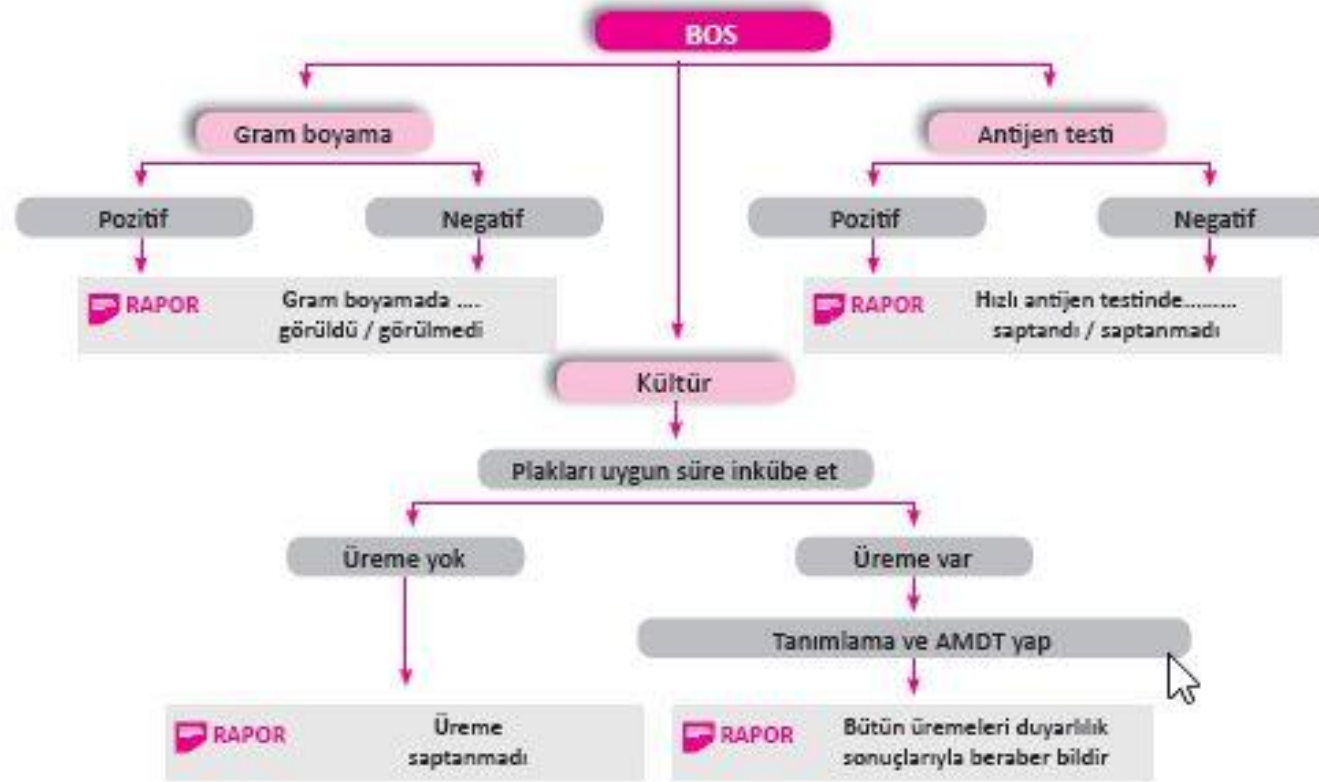
tw

Anasayfa

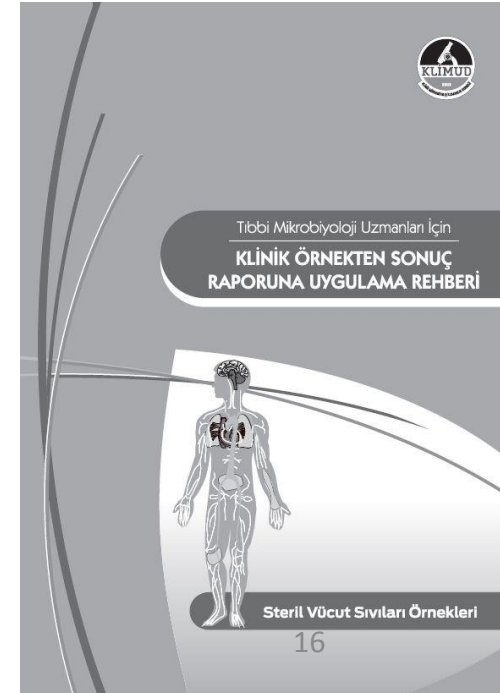
Geri Dön!

Klimud Rehberler – Steril Vücut Sıvıları

1.8. İş akış şeması*



(*)BOS bulguları ile viral (aseptik) menenjitlerde ve klinik tablo olarak ensefalit düşünülen olgularda BOS'ta viral DNA/RNA aranmalıdır.



Klimud Rehberler – Steril Vücut Sıvıları

1. 2. Klinik örnek mikroorganizma ilişkisi

Beyin omurilik sıvısı normalde steril bir sıvıdır ve mikroorganizma bulunmaz, örnek alınırken kontamine olmamışsa saptanan bütün mikroorganizmalar etken kabul edilir.

Tablo 1.1. BOS'ta bulunabilecek olası etken mikroorganizmalar

Olası Etkenler			
Bakteri	Virüs	Mantar	Parazit
<i>Neisseria meningitidis</i>	Herpes simplex virus	<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Acanthamoeba</i> spp.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Enterovirüsler	<i>Candida</i> spp.	<i>Balamuthia</i>
<i>Haemophilus influenzae</i> tip b	Human herpes virus 6	Esmer mantarlar	<i>mandrillaris</i>
<i>Escherichia coli</i>	Human immunodeficiency virus	<i>Aspergillus</i>	<i>Sappinia diploidea</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Dengue virus	<i>Histoplasma capsulatum</i>	<i>Naegleria fowleri</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	Influenza virus	<i>Coccidioides immitis</i>	<i>Microsporidia</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Epstein–Barr virus		
Gram negatif basiller	JC polyomavirus		
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Parvovirus B19		
<i>Treponema pallidum</i>	Kuduz virüsü		
<i>Brucella</i> spp.	Kızamık virüsü		
	Kabakulak virüsü		
	Varicella zoster virus		
	Batı Nil ateşi virüsü		
	Cytomegalovirus		
	Adenovirus		
	Rotavirus		
	Lenfositik koryomenenjit virüsü		

Tablo 1.7. BOS'ta bulunan olası etkenler için önerilen tanı yöntemleri

Etken	Önerilen tanı yöntemi	Ek tanı yöntemi
<i>N. meningitidis</i>	Mikroskopi, kültür	Kan kültürü
<i>S. pneumoniae</i>		
<i>H. influenzae</i>		
<i>S. agalactiae</i>		
<i>E. coli</i>		
<i>L. monocytogenes</i>		
<i>M. tuberculosis</i>	ARB, kültür, PCR	Balgamda ARB, kültür, PCR
<i>T. pallidum</i>	VDRL	Serumda antikor
<i>B. burgdorferi</i>	Antikor	
<i>Brucella</i> spp.	Rose Bengal, STA, Coombs'lu <i>Brucella</i> kültürü	Kan kültürü, serumda Rose Bengal, STA, Coombs'lu <i>Brucella</i> testleri

Adenovirus	PCR/ RT-PCR	PCR, virüs kültürü (plazma, boğaz sürüntüsü)
Cytomegalovirus		Virüs kültürü (kan, idrar, boğaz sürüntüsü), IgM (serum)
Dengue virus		Virüs kültürü
Enterovirus, Parechovirus		Virüs kültürü, RT-PCR (dışkı ve boğaz sürüntüsü)
Epstein-Barr virus		
Herpes simplex virus		
HIV		
HHV-6		HHV 6 IgM (BOS), PCR ve HHV6 IgM (serum)
Influenza virus		RT-PCR ve virüs kültürü (solunum yolu örneklerinde)
JC polyomavirus		
Kızamık virüsü		IgM(BOS, serum), PCR (nazofarinks sürüntüsü ve idrar)
Kabakulak virüsü		IgM, IgG (serum), virüs kültürü (tükürük, boğaz)
Parvovirus B19		PCR ve IgM (BOS, serum)
Kuduz virüsü		Antikor (BOS, serum), RT-PCR ve DFA (tükürük ve deri biyopsisi)
Varicella zoster virus		IgM (BOS, serum)
Rotavirus		Antikor (serum), RT-PCR ve antijen (dışkı)
Batı Nil virüsü	IgM, RT-PCR	IgM (serum), RT-PCR (kan ve idrar)

Tablo 1.3. Örneklerin alımı, transferi, kabul veya ret ölçütleri

Örnek alma yöntemi	Taşıma kabı	Örnek miktarı	Taşıma süresi/ ısı*	Saklama süresi/ ısı	Ret Ölçütleri
Usulüne uygun LP	Steril tüp	Konvansiyonel Bakteriler için ≥ 1 mL	≤ 15 dk, Oda ısı	≤ 24 sa, oda ısı	Yok
		Mantarlar için ≥ 2 mL			
		Mikobakteriler için ≥ 5 mL			
		Virüsler için ≥ 1 mL	≤ 24 sa, 4°C	≥ 24 sa, -80°C	
		Parazitler için ≥ 1 mL	≤ 2 sa, Oda ısı	Yok	

(*) *H. capsulatum*, *C. immitis*, *B. dermatitidis* ve *A. fumigatus*'un soğuk ortamda canlılıklarını yitirdiklerine ilişkin az sayıda çalışma mevcuttur. Bu nedenle bu etkenlerden süphelenilmesi durumunda örnekler en kısa sürede işleme alınmalıdır.



BOS (virolojik incelemeler dışında) asla buzdolabına konmamalıdır.

SSS Enfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı:

Yöntem	Ulaşılabilirlik	Sonuçlanma süresi	Yorum	Avantaj	Dezavantaj
Mikroskopi	Klinik lab	1/2 saat	Direk Semptomlarla birlikte	Hızlı	↓Duyarlılık ve Özgüllük
Hızlı antijen testleri	Klinik lab	15dk	Direk Semptomlarla birlikte	Hızlı	Yanlış Pozitiflik
Kültür	İleri tanı lab	2-14 gün	Kesin	Antimikrobiyal Duyarlılık	Zaman alıcı ↓Duyarlılık Kısıtlı mikroorganizma
Seroloji	Klinik lab	2-8 saat	Dolaylı	Otomasyon	Çapraz reaksiyon Retrospektif İmmünsüprese
Moleküler Tanı	İleri tanı lab/ Hasta Başı testler	2-8 saat	Direk Canlılık gerekmez	↑Duyarlılık ve Özgüllük	Klinik anlamı??

Tanısal Viroloji:

- **Viral Kültür:**
 - ✓ Primer/diploid/devamlı hücre hattı
 - ✓ sitopatik etki
 - ✓ Shell-vial
 - ✓ «coculture»
 - ✓ Genetik mühendisliği
 - ELVIS® HSV hücre hattı
- **Mikroskopi**
- **Sitoloji/Histoloji**
- **Antijen Saptanması**

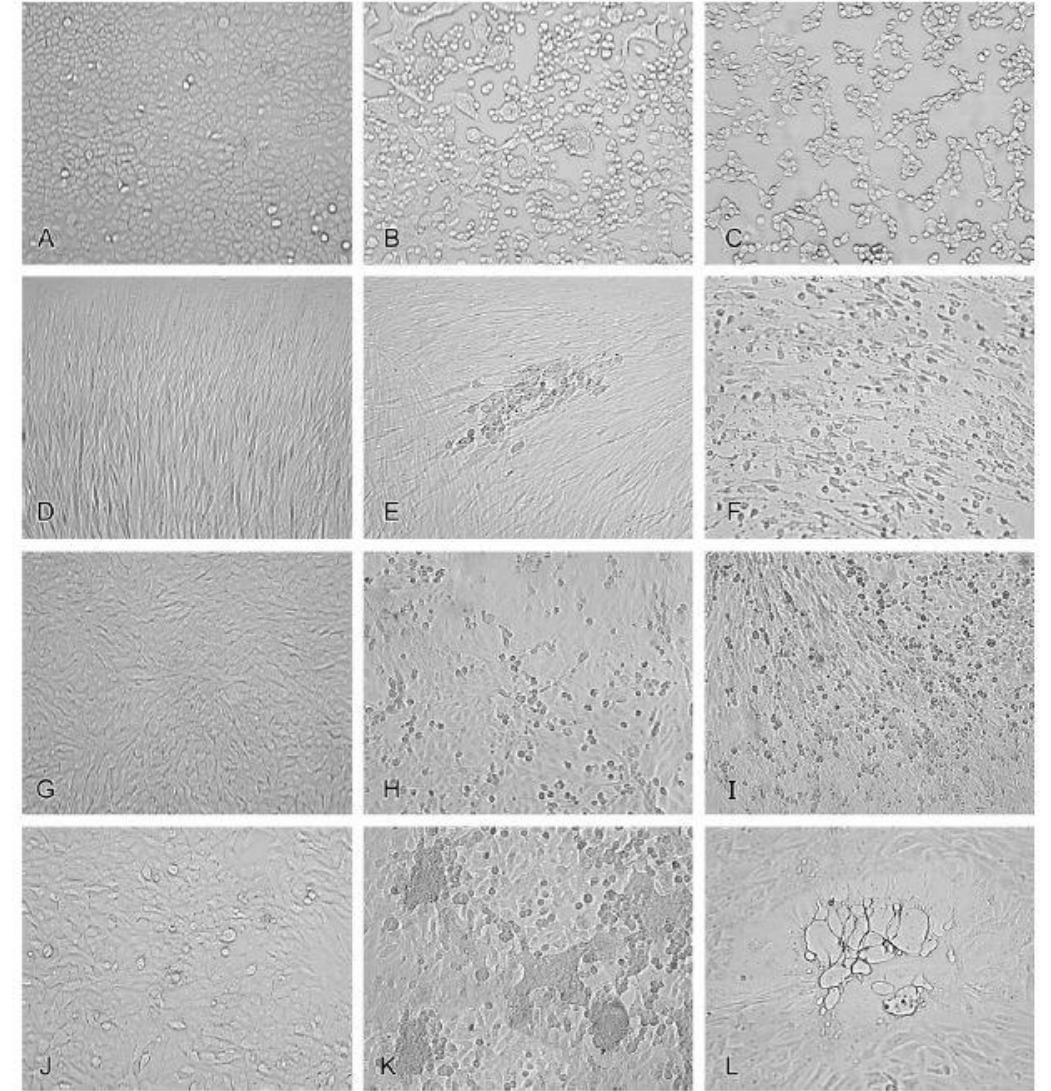


FIG. 1. Uninfected cell cultures and cell cultures showing CPE of viruses commonly isolated. (A) Uninfected A549 cells; (B) HSV-2 in A549 cells; (C) adenovirus in A549 cells; (D) uninfected MRC-5 fibroblasts; (E) CMV in MRC-5 fibroblasts; (F) rhinovirus in MRC-5 fibroblasts; (G) uninfected RhMK cells; (H) enterovirus in RhMK cells; (I) influenza A virus in RhMK cells; (J) uninfected HEP-2 cells; (K) RSV in HEP-2 cells; (L) monkey virus contaminant in RhMk cells. Magnification, $\times 85$.

Fields Virology Knipe&Howley -6. baskı, 2013

Leland DS, Ginocchio CC. CMR; 20(1); 49-78.

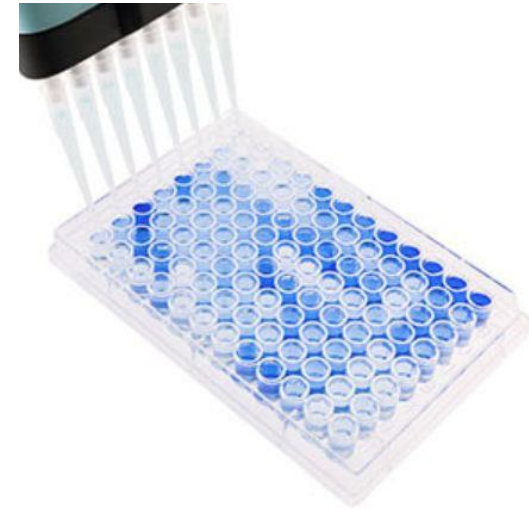
Tanısal Viroloji:

- **Moleküler Testler:**

- ✓ NAAT
- ✓ Sekans
- ✓ Mikroçip

- **Serolojik testler**

- ✓ Katı Faz: EIA, IFA, RIA
- ✓ Fonksiyonel Testler: Nötralizasyon
HAI
- ✓ Aglütinasyon testleri



SSS Viral Enfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı:

SENDROM	VİRÜS	YÖNTEM ¹
MENENJIT	Enterovirüsler HSV VZV HIV	NAAT NAAT NAAT NAAT (plazma)
ENSEFALIT	HSV BNV ve diğer Arbovirüsler VZV EBV HHV-6 Rabies Mumps LCMV	NAAT IgM (Serum ve BOS) ² NAAT, intratekal antikor sentezi ³ NAAT, IgM (serum ve plazma) NAAT NAAT (BOS ve Tükrük), Antikor (BOS ve Serum), FA deri biyopsisi NAAT (BOS ve Tükrük), IgM (Serum) IgG ve IgM (BOS ve Serum), NAAT, Kültür
ENSEFALIT	CMV EBV VZV JC	NAAT NAAT NAAT, intratekal antikor sentezi ³ NAAT

¹NAAT (Nükleik Asit Amplifikasyon Testi) aksi belirtilmiyorsa BOS'da gerçekleştirilir.

²Test, BOS ve serumda gerçekleştirilir. BOS testi Akut Enfeksiyon için özgüdür.

³VZV SSS vaskülopatilerinde intratekal antikor sentezi NAAT'a göre daha duyarlı bulunmuştur.

SSS Viral Enfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı:

Moleküler yöntemler/ Serolojik yöntemler

- ❖ Yüksek duyarlılık ve özgüllük
- ❖ Hız
- ❖ Multipleks testler
- ❖ Kantitasyon
- ❖ PCR temelli çeşitli yöntemler -uygulanabilirlik
- ❖ Laboratuvar sonucu bekleme gerginliği
- ❖ Gereksiz test isteme
- ❖ Maliyet etkinlik

Altın Standart Testler

Platin Standart Testler

Moleküler Tanı: Duyarlılık Özgüllük

TABLE 1. Summary of PCR testing for viral encephalitis

Organism	Sensitivity	Specificity	Comments	References
Viruses				
Adenovirus	Unknown	Unknown		120, 219
Arboviruses	Unknown (not standardized)	Unknown		107, 138, 153, 209
WNV	60%		CSF serology is more sensitive	30, 108, 140, 230, 249
BK virus	Unknown	Unknown		20
Enterovirus	>95%	>95%		6, 160, 178, 180, 187, 192, 193, 195, 200, 203–206, 239, 240, 246
Herpesviruses				
CMV	82–100% in immunocompromised patients, $\geq 60\%$ in congenital CMV infection	86–100%	Quantitation available to monitor response to therapy and predict disease severity	13, 21, 31, 45, 47, 48, 51–57, 98, 211, 215, 220, 221, 237, 254, 260
EBV	98.5% as tumor marker in HIV patients with CNS lymphoma	100%	Predictive value in normal hosts is unclear; quantitation available for monitoring response to therapy and possibly assessing risk of CNS disease in HIV patients	10–12, 26, 44, 50, 56, 63, 87, 102, 106, 110, 119, 141, 155, 170, 171, 183, 219–221, 223, 233, 248
HHV-6	>95%		Poor positive predictive value for disease (30% positivity in normal hosts)	22, 34, 42, 73, 91, 109, 111, 128, 130–132, 145, 152, 222, 227, 228, 234, 259
HSV-1 and -2	>95%	>95%	Quantitation available (see text for multiple uses)	9, 16, 43, 52, 68–71, 83, 84, 102, 118, 123–127, 137, 139, 143, 156, 159, 163, 174–76, 182, 191, 212, 214, 229, 231, 232, 235, 236, 238, 243, 247, 253
VZV	80–95% in immunocompromised patients	>95%		8, 59, 66, 75, 93–97, 112, 129, 134, 135
HIV	HIV RNA is present at all stages	>95%	Quantitation available, correlates with likelihood of neurologic disease, and is useful for monitoring response to antiretroviral therapy	29, 32, 45–51, 53, 57, 77, 99, 151, 172, 184
HTLV-1 and -2	90% for HAM/TSP	90%	Quantitation available and may predict risk of neurologic disease	149, 162, 173
JC virus	50–75% for PML	98–100%	Quantitation available for assessing response to therapy and correlates with prognosis	20, 63, 67, 72, 76, 81, 88, 89, 106, 133, 157, 202, 223, 225, 226, 245, 258
Measles virus	Unknown	Unknown	Quantitation available to monitor load in SSPE patients in response to therapy	105, 123, 136, 150, 242
Rabies virus	100%	100%		24, 61, 241

Moleküler Tanı: Hız ve Multipleksleme

Table 2

Commercially available FDA cleared or approved assays for pathogen detection in the CNS.

Manufacturer	Assay Name	Organism	Technology	Specimen type	Comments	References
Cepheid, Sunnyvale, CA	Xpert EV Assay	Enteroviruses	Real-time PCR	CSF	Target is the 5' untranslated region; Fully integrated and random access; 2h30' TAT	51
bioMérieux, Durham, NC	NucliSENS EasyQ Biterovirus Assay	Enteroviruses	NASBA	CSF	Target is the 5' untranslated region; Separate nucleic acid and amplification/detection steps, automated; 5h TAT	60
Focus Diagnostics, Cypress, CA	Simplex HSV-1&2 Direct	HSV-1, HSV-2	Real-time PCR	CSF; genital lesions	Target is the DNA Polymerase; Semi-automated; no extraction; 1h TAT	59

BioFire Diagnostics, Salt Lake City, UT

Bakteriyel:
Escherichia coli K1,
Haemophilus influenzae,
Listeria monocytogenes,
Neisseria meningitidis,
Streptococcus agalactiae,
Streptococcus pneumoniae

i, Lm, Nm,
 MV,
 us, HSV-1,
 HHV-6)

virus, CMV, cy
 to meningitidis

Viral:
 CMV,
 EV,
 HSV 1&2,
 HHV-6,
 human parechovirus
 VZV

Fungal:
Cryptococcus neoformans/gattii

Abbreviations: NASBA, nucleic acid seq
 EcK1, *E. coli* K1; Hi, *Haemophilus infl*

HSV-6
 HHV-6

SSS Viral Enfeksiyonlarının Moleküler Tanısı:

Mikroorganizma	Klinik	Moleküler Test Kriteri	Yorum
Adenovirüsler	Meningoensefalit	B	Serotip 7 Kültür
Arbovirüsler	Meningoensefalit	A-B	Seroloji
CMV	Ensefalit, miyelit	A	Moleküler Direnç tespiti
Enterovirüsler	Menenjit	A	BOS PCR Dışkı ve NF Sürüntü Genotipe yönelik?
EBV	Lenfoma, miyelit	A-B	BOS PCR reaktivasyon? Seroloji
HHV-6, HHV-7	Ensefalit	A	BOS PCR
HSV-1/HSV-2	Ensefalit, menenjit	A	BOS PCR altın standart

SSS Viral Enfeksiyonlarının Moleküler Tanısı:

Mikroorganizma	Klinik	Moleküler Test Kriteri	Yorum
Influenza/Parainfluenza	Ensefalit	A	BOS PCR-Tanıya yönelme
JC virus	«Progressive Multifocal Leukoencephalopathy»	A	Moleküler BKV yüksek pozitif ise yalancı pozitiflik
LCMV	Meningoensefalit	B	Seroloji Moleküler-transplant
Kızamık virüsü	SSPE	C	Seroloji BOS /Serum indeksi Beyin dokusu PCR
Kabakulak virüsü	Ensefalit, menenjit	B	Serum ve BOS IgM/IgG beraberinde Serum ve BOS PCR
Kuduz virüsü	Ensefalit	B	Seroloji (Serum, BOS) PCR (Tükrük, deri veya BOS) IFA (Ense /SSS doku biyopsi)

SSS Viral Enfeksiyonlarının Moleküler Tanısı:

Mikroorganizma	Klinik	Moleküler Test Kriteri	Yorum
Parvovirüs	Ensefalit	B	Serum ve BOS IgM/IgG ve Serum ve BOS PCR
VZV	Menenjit, miyelit	B	BOS PCR ve Seroloji
West Nile Virus (BNV)	Ensefalit, miyelit	B	BOS IgM ve Serum IgM birlikte test edilmeli BOS PCR Bazen
Zika virus	Mikrosefali	A	PCR (Plazma, İdrar, BOS, Amniyon sıvısı, Semen) Seroloji

A: Moleküler Testler tanıda önemli

B: Belli klinik formlarda ya da şartlarda-yorum kısmı

C: rutin tanıda yeri sınırlı/ farklı şartlarda

Klimud Rehberler – Steril Vücut Sıvıları

Adenovirus	PCR/ RT-PCR	PCR, virüs kültürü (plazma, boğaz sürüntüsü)
Cytomegalovirus		Virüs kültürü (kan, idrar, boğaz sürüntüsü), IgM (serum)
Dengue virus		Virüs kültürü
Enterovirus, Parechovirus		Virüs kültürü, RT-PCR (dışkı ve boğaz sürüntüsü)
Epstein-Barr virus		
Herpes simplex virus		
HIV		
HHV-6		HHV 6 IgM (BOS), PCR ve HHV6 IgM (serum)
Influenza virus		RT-PCR ve virüs kültürü (solunum yolu örneklerinde)
JC polyomavirus		
Kızamık virüsü		IgM(BOS, serum), PCR (nazofarinks sürüntüsü ve idrar)
Kabakulak virüsü		IgM, IgG (serum), virüs kültürü (tükürük, boğaz)
Parvovirus B19		PCR ve IgM (BOS, serum)
Kuduz virüsü		Antikor (BOS, serum), RT-PCR ve DFA (tükürük ve deri biyopsisi)
Varicella zoster virus	IgM, RT-PCR	IgM (BOS, serum)
Rotavirus		Antikor (serum), RT-PCR ve antijen (dışkı)
Batı Nil virüsü		IgM (serum), RT-PCR (kan ve idrar)

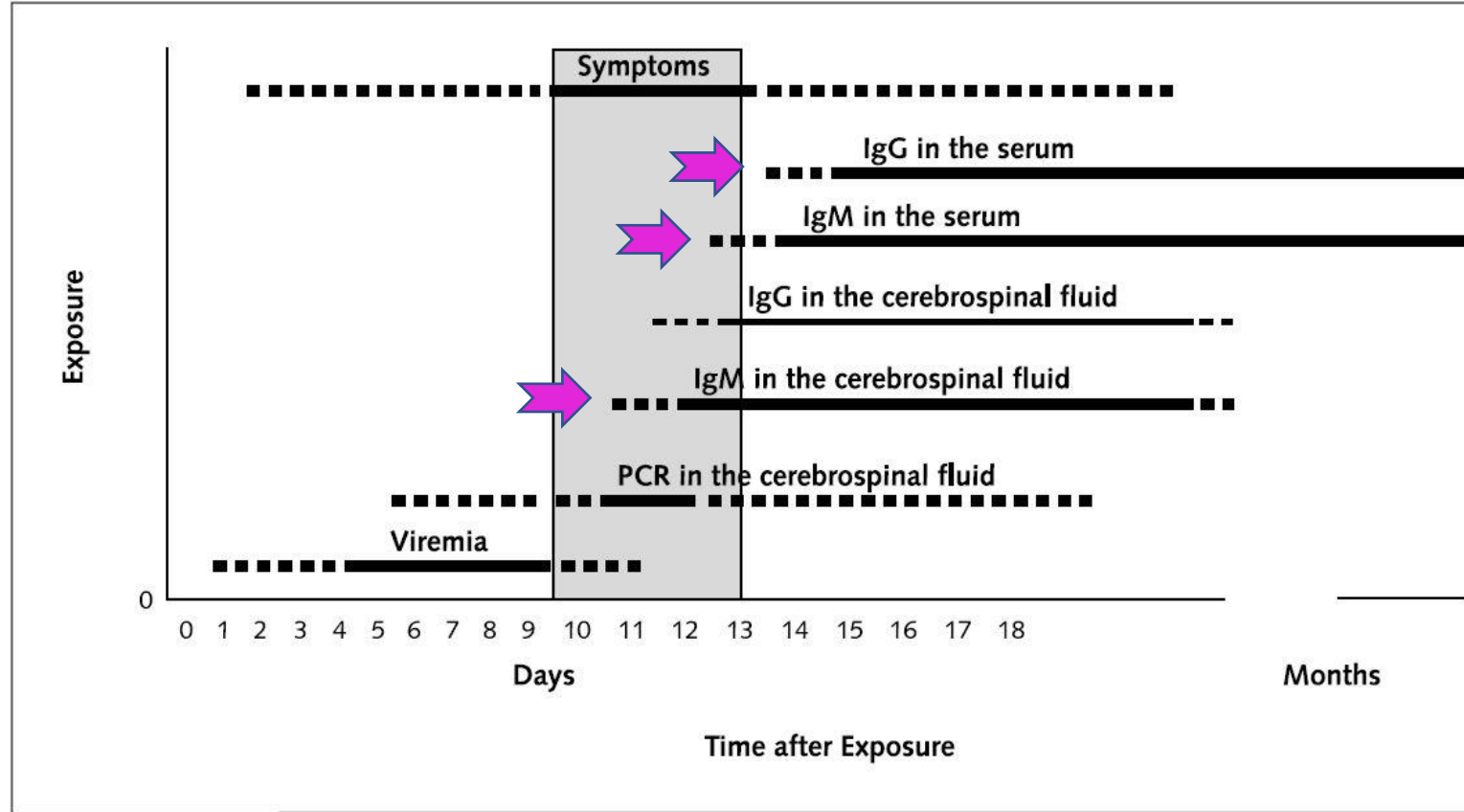
SSS Viral Enfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı:

Serolojik yöntemler/ Moleküler yöntemler

- ❖ BOS IgM – Nöroinvaziv hastalık
- ❖ Serum IgM- Tek tanı yöntemi (Arbovirüsler)
- ❖ Serokonversiyon ve Titre artışı
- ❖ Nötralizan antikor yanıtı
- ❖ IgG Avidite
- ❖ Kesin Tanı

Altın Standart Testler

BNV Ensefaliti Laboratuvar Tanısı:



Gölgeli alan; Semptomların başladığı dönem

Çizgiler; yaygın hasta profili

Kesik çizgiler; raporlanmış vakalar

BNV Ensefaliti Laboratuvar Tanısı:

Laboratuvar Kriterleri

Destekleyici laboratuvar kriterleri:

1. Serumda BNV özgül IgM antikor cevabının gösterilmesi
(Antikorlar arası çapraz reaksiyon olduğu için tek başına antikor cevabı şüpheli karşılanmalıdır)

Doğrulayıcı Laboratuvar kriterleri:

1. Kanda veya BOS'ta BNV izolasyonu,
2. Kanda veya BOS'ta BNV nükleik asidinin saptanması*
3. BOS'ta BNV özgül IgM antikor cevabı
4. Serumda BNV yüksek IgM titres ve BNV IgG tespiti ve IgM ve IgG'nin nötralizasyonla doğrulanması.

[*NOT: İdrar ile virüs atılımı da gözlemlendiği için idrar numuneleri de laboratuvar tarafından incelenmektedir.]

[NOT: Laboratuvar sonuçları, diğer flavivirüs ve arbovirüs ailesi içerisinde yer alan etkenlerle enfeksiyon ve aşılama olasılıkları göz önüne alınarak değerlendirilmelidir.

Bu koşullarda antikora dayalı testlerde antijenik benzerliğe bağlı yalancı pozitiflikler saptanabilmektedir.]

BNV Ensefaliti Laboratuvar Tanısı:

Ulusal Arbovirüs ve Viral Zoonotik Hastalıklar Laboratuvarı:

Moleküler Testler:

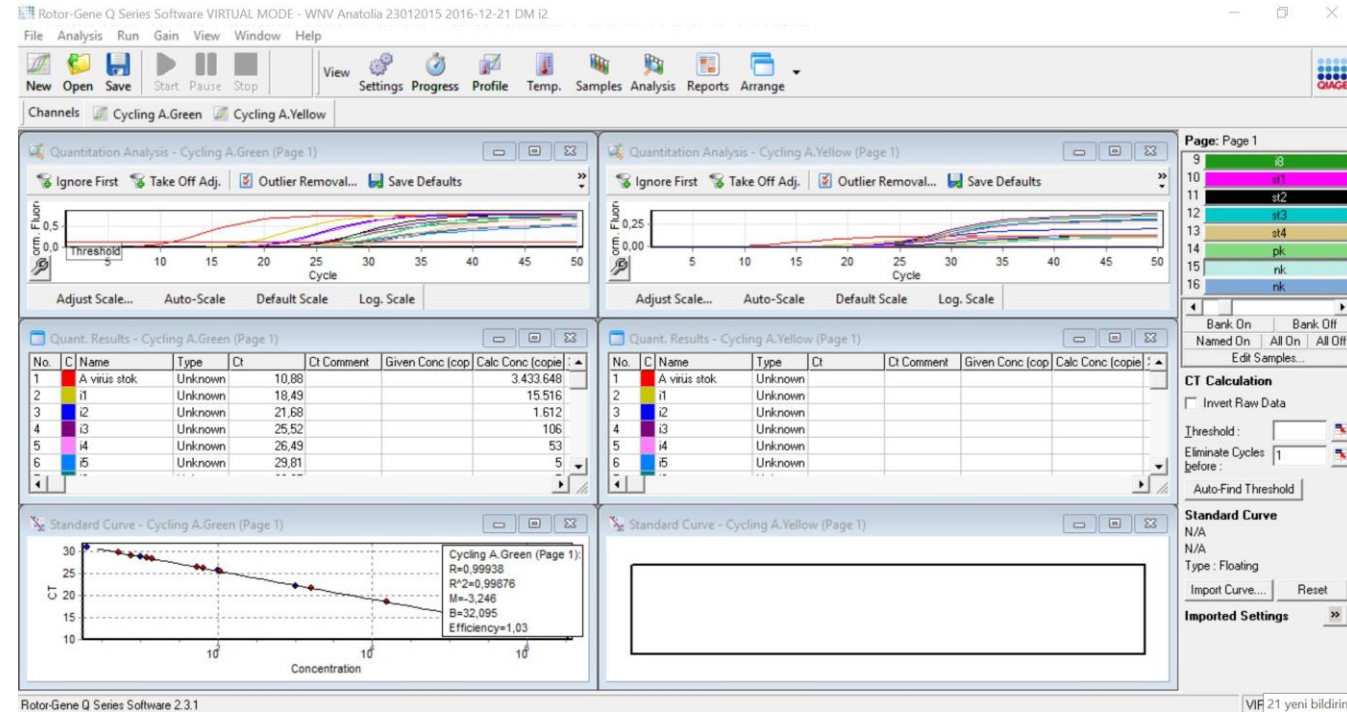
- Bosphore Kantitatif RT PCR kiti (Anatolia GeneWorks®, İstanbul)

ISO 15189:2014 Akredite Parametre

Örnek:

BOS, Serum, Plazma, İdrar

- Dış Kalite Kontrol Programı (QCMD)
- İç Kalite Kontrol



BNV Ensefaliti Laboratuvar Tanısı:

Ulusal Arbovirüs ve Viral Zoonotik Hastalıklar Laboratuvarı:

Serolojik Testler:

- IgM/ IgG;
İndirek İmmunfloresan Antikor (IFA)
(*Flavivirus* Mosaic 1 Euroimmun®,Almanya)

BNV,JEV,SHV,KKE

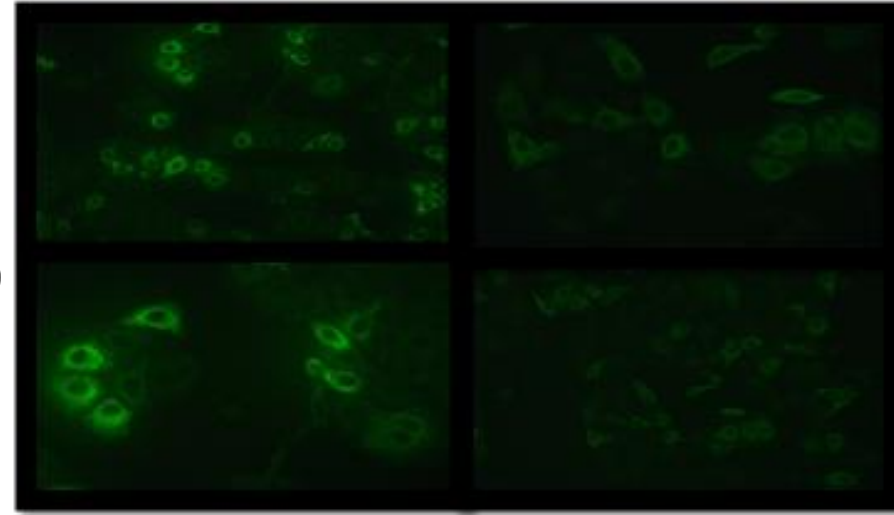
4X titre artışı

çapraz rxn!!!

- Örnek:

Serum

- Dış Kalite Kontrol Programı (YOK)



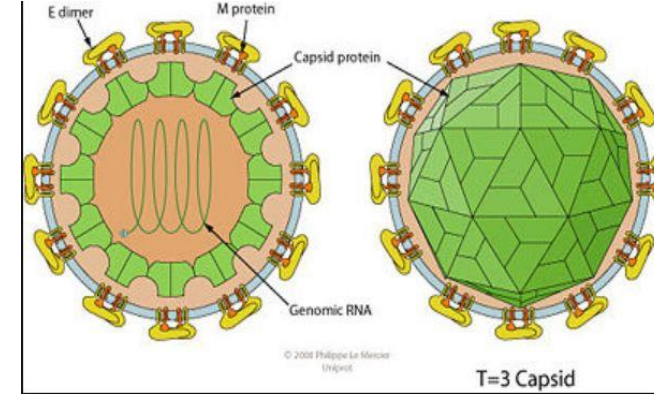
Antibody titers can be determined according to the following table from the fluorescence of the different sample dilutions:

Fluorescence at				Antibody titer
1:10	1:100	1:1000	1:10000	
weak	negative	negative	negative	1:10
moderate	negative	negative	negative	1:32
strong	weak	negative	negative	1:100
strong	moderate	negative	negative	1:320
strong	strong	weak	negative	1:1000
strong	strong	moderate	negative	1:3200
strong	strong	strong	weak	1:10000
:	:	:	:	:

BNV Ensefaliti : Serolojik Testler

Flavivirüs cinsi

Virus	Serocomplex	Clade	Cluster	
West Nile	Japanese encephalitis	XIV	Mosquito-borne	
Kunjin				
Japanese encephalitis		XI		
Murray Valley encephalitis				
St Louis encephalitis				
Dengue-1	Dengue	IX		
Dengue-3				
Dengue-2				
Dengue-4				
Yellow fever	None	VII		
Central European encephalitis	Tick-borne encephalitis	IV	Tick-borne	
Far Eastern encephalitis				
Powassan				
Dakar bat	None	III	No vector	



Çapraz reaksiyon tüm flavivirüslerin yüzeyinde E «envelope» proteinine karşı oluşan antikor yanıtı nedeniyle meydana gelmektedir

BNV Ensefaliti Laboratuvar Tanısı:

Ulusal Arbovirüs ve Viral Zoonotik Hastalıklar Laboratuvarı:

Serolojik Testler:

- **Nötralizasyon Testleri;**

Plak Redüksiyon Nötralizasyon Testi
(PRNT) – Vero E6 hücre hattı

Virüs kontrol

Serum ile muamele edilen Virüs

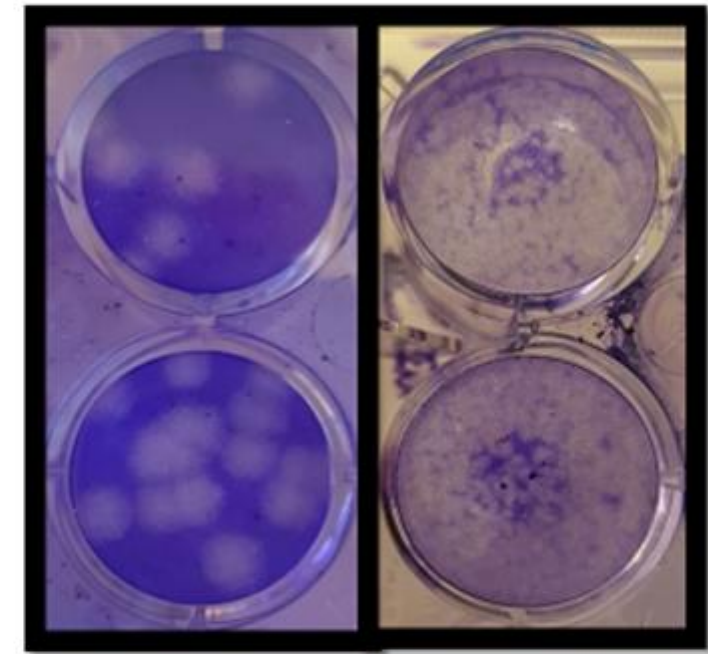
➡ **Plak Sayısı**

Titre artışı

- **Örnek:**

Serum

- **Canlı Virüs - NY99 izolatı –BSL 3**
- **Zaman alıcı – 10 gün**
- **Akut/Konvalesan serum**



BNV Ensefaliti : 2016-2017 Laboratuvar Verileri

	2016	2017
Toplam örnek (BOS/İdrar/Serum)	293	295
rRT PCR uygulanan	105	169
IIFA reaktif (IgM/IgG//IgM+IgG)	27	29
PRNT Pozitifliği	10	11+1?
Vaka sayısı	2	7+1?
İller	Adana (2) İzmir Manisa	Şanlıurfa (2) Hatay (1) İstanbul (1) Mersin (1)
Mevsim	Eylül-Ekim	Temmuz-Ağustos (3)-Eylül (3)
IgG pozitifliği saptanan iller	Adana Manisa Mardin	Adana Manisa Mardin Şanlıurfa Van

Ulusal Mikrobiyoloji Standartları – Tanı Rehberi:

