

Solunum Yolu Enfeksiyonlarının Tanısında Sendromik Yaklaşım

Tanıl Kocagöz



ACIBADEM
MEHMET ALİ AYDINLAR
ÜNİVERSİTESİ

Sendromik Yaklaşım

Sendrom: Belli bir bozukluğu gösteren belirti ve bulguların tamamı.

Sendromik Tanı Yaklaşımı: Benzer belirti ve bulguları ortaya çıkartan bir çok hastalık etkenini eş zamanlı olarak araştırmak.

Delikli Demir Çıktı Mertlik Bozuldu mu?

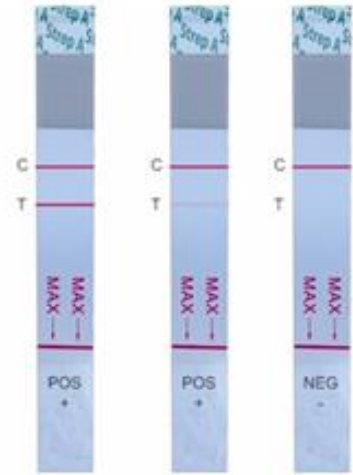
- Rastgele atış: Her şeye tek testte bakalım elbet birini tuttururuz.



Köroğlu 16. Yüzyıl

Sendromik Testler Hangi Durumlarda Gerekir?

- Üst solunum yolu enfeksiyonları: %90 viral, geriye kalan %10'un büyük bir kısmı A grubu beta hemolitik streptokok. Hızlı kromatografik test veya boğaz kültürü yeterli.
- Yaşlı, bebek, bağışıklık sistemi baskılanmış hasta ise influenza enfeksiyon şüpesi var mı? Salgın var mı? Hızlı kromatografik test yapılabilir. Influenzaya yönelik tekli moleküler test uygulanabilir.



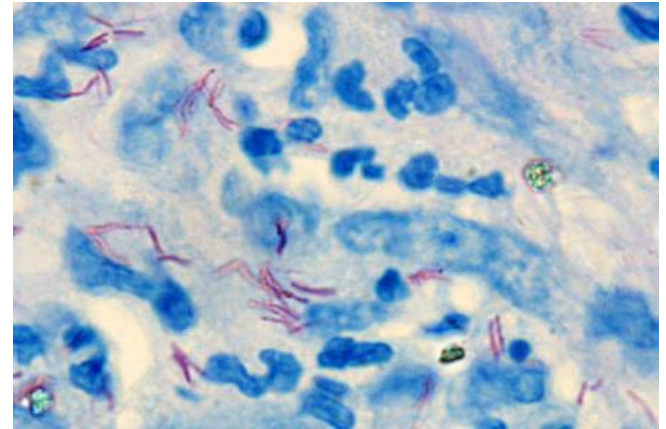
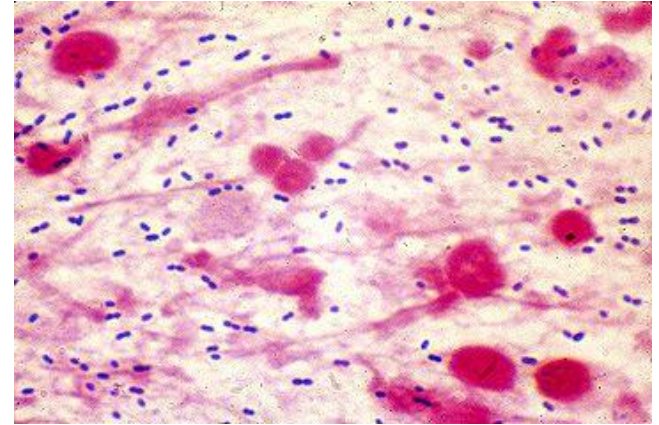
Bacit A

Bir günde

A grubu Beta Hemolitik Streptokok
Tanısı

Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu

- Tipik lobar pnömoni; akut; hasta balgam çıkarıyor. Balgam yayması, mikroskopik inceleme, *Streptococcus pneumoniae*.
- 2 haftayı geçen öksürük, balgam çıkarma. Balgam yayması, aside dirençli boyama, tüberküloz. *M. tuberculosis*'e yönelik moleküler test yapılabilir.



Atipik Pnömoni

- Sendromik tanı testleri çok yararlı olabilir.
- *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*.
Mikroskopta görülemiyorlar, kültürde zor ve geç ürüyorlar, *Chlamydia* ökaryotik hücre kültürüne ekim gerektiriyor. Tedavilerinde farklı ilaçlar kullanılıyor.
- Viral pnömoniler: Çok çeşitli virüsler alt solunum yolu enfeksiyonuna yol açabiliyor. Tanınması gereksiz antibiyotik kullanımını engelleyebilir.

Çoklu Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PZT) (Real Time PCR) Atipik Pnömoni Etkenlerinin Tek Tepkime ile Saptanması

Molekül Ağırlık Standartı

Her etkenden farklı büyüklükte DNA çoğaltan primerler ile tek tüpte PZT yapılır. Elde edilen ürünün büyüklüğü incelenerek hangi etken olduğu anlaşılır.

Chlamydia pneumoniae

Legionella pneumophila

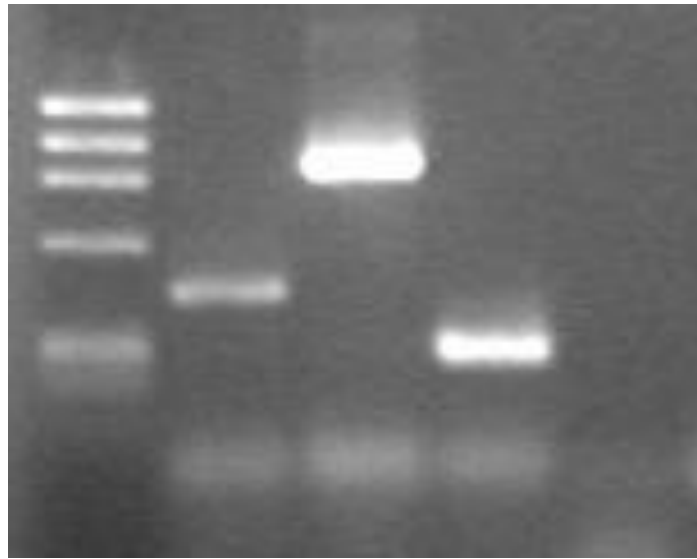
Mycoplasma pneumoniae

1350

600

310

bp



900

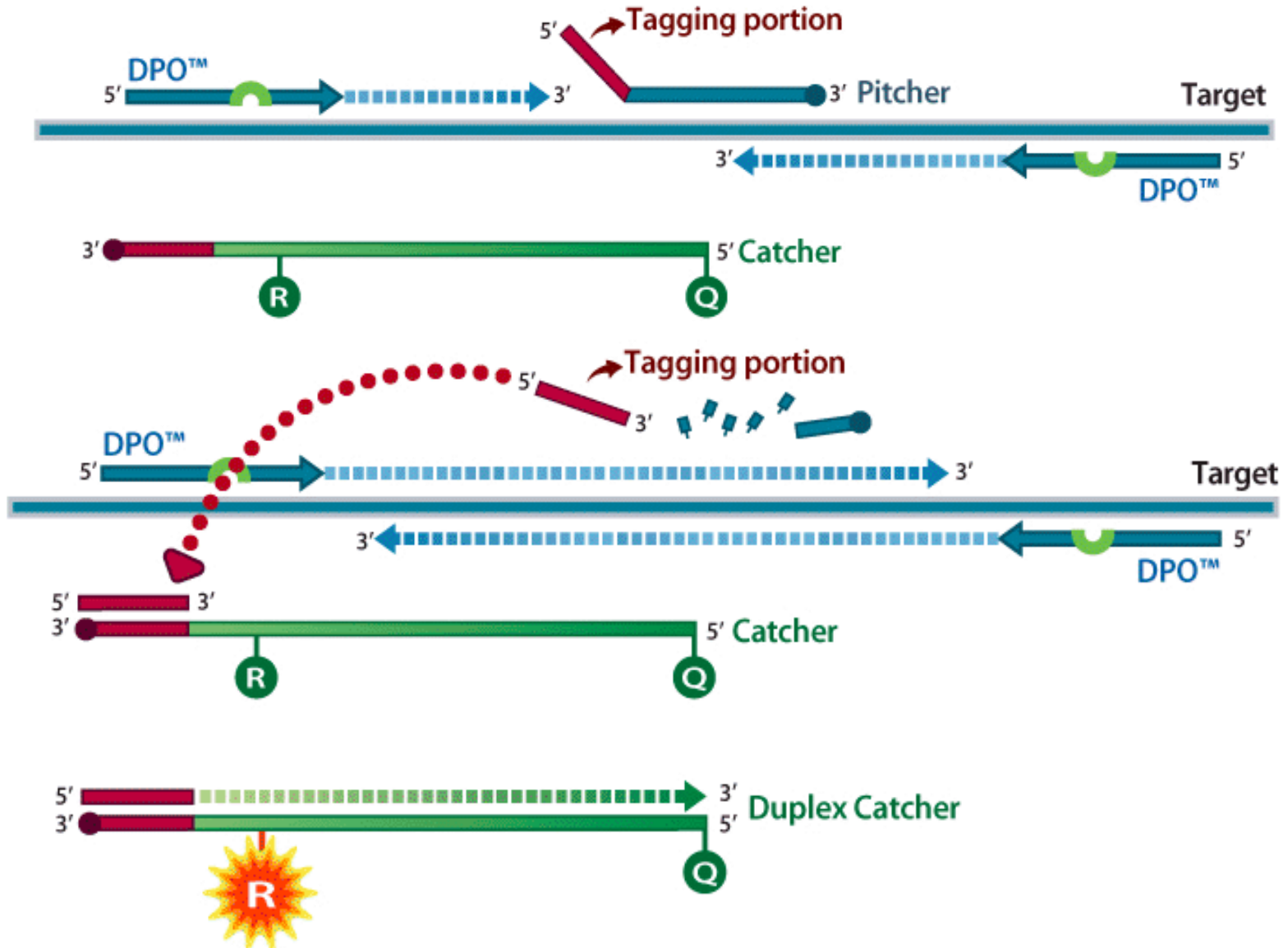
437

277

bp

Pınar A, N. Bozdemir, T. Kocagoz, R. Alaçam. Rapid detection of bacterial atypical pneumonia Agents by multiplex PCR. Cent Eur J Public Health. 2004 Mar;12(1):3-5.

Çoklu İzlenebilir Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PZT) (Multiplex Real Time PCR)



Panel 1

CE-IVD Marked

- Influenza A virus (Flu A)
- Influenza B virus (Flu B)
- Respiratory syncytial virus A (RSV A)
- Respiratory syncytial virus B (RSV B)
- Flu A-H1
- Flu A-H1pdm09
- Flu A-H3

Panel 2

- Adenovirus (AdV)
- Enterovirus (HEV)
- Parainfluenza virus 1 (PIV 1)
- Parainfluenza virus 2 (PIV 2)
- Parainfluenza virus 3 (PIV 3)
- Parainfluenza virus 4 (PIV 4)
- Metapneumovirus (MPV)

Panel 3

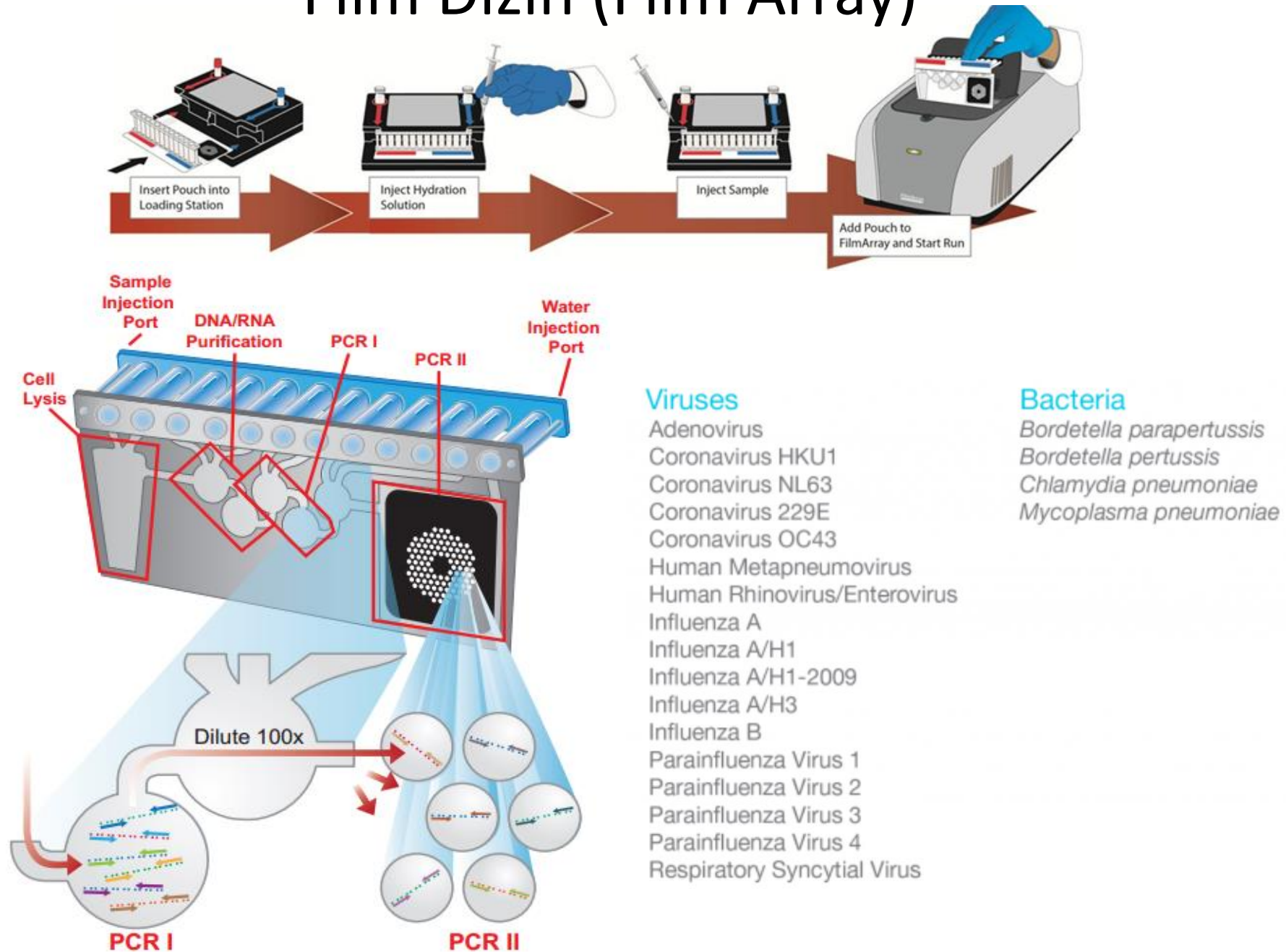
CE-IVD Marked

- Bocavirus (HBoV)
- Rhinovirus (HRV)
- Coronavirus NL63 (CoV NL63)
- Coronavirus 229E (CoV 229E)
- Coronavirus OC43 (CoV OC43)

Panel 4

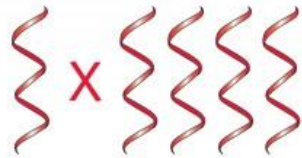
- *Mycoplasma pneumoniae* (MP)
- *Chlamydomphila pneumoniae* (CP)
- *Legionella pneumophila* (LP)
- *Haemophilus influenzae* (HI)
- *Streptococcus pneumoniae* (SP)
- *Bordetella pertussis* (BP)
- *Bordetella parapertussis* (BPP)

Film Dizin (Film Array)

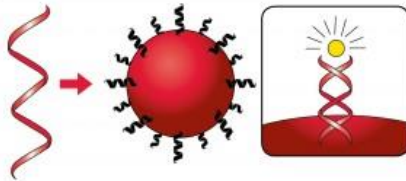


Boncuk Dizin (Bead Array)

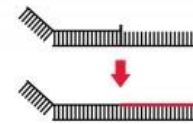
- 1 Multiplex PCR Reaction with Amplicon Treatment



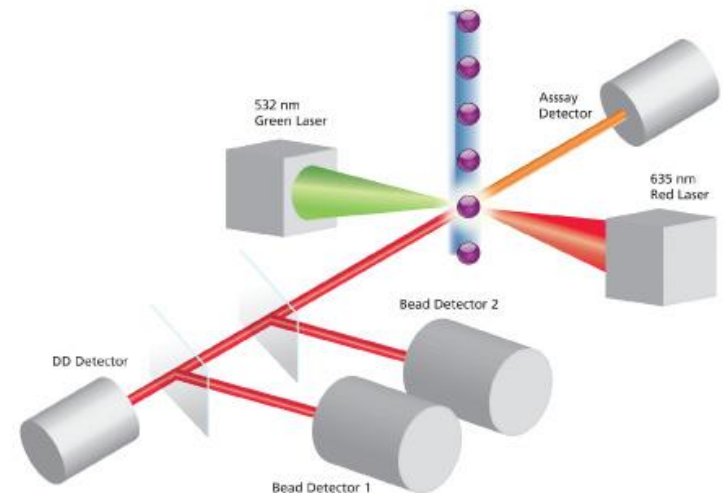
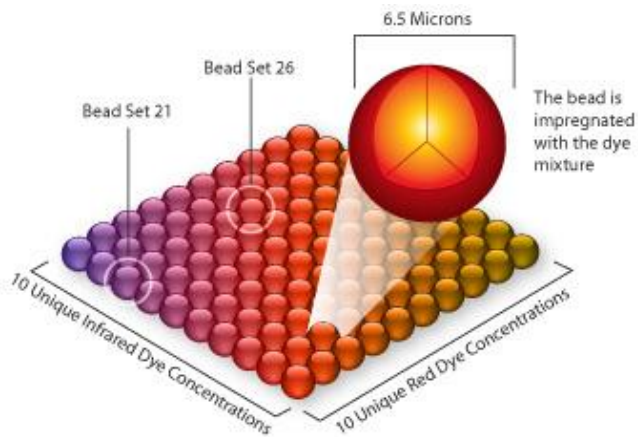
- 3 Hybridization & Detection



- 2 Allele Specific Primer Extension



- 4 Data Acquisition & Analysis



Viral Targets

Influenza A

Rhinovirus/Enterovirus

Adenovirus

Influenza A H1

Parainfluenza virus 1

Coronavirus HKU1

Influenza A H3

Parainfluenza virus 2

Coronavirus NL63

Influenza B

Parainfluenza virus 3

Coronavirus 229E

Respiratory Syncytial Virus A

Parainfluenza virus 4

Coronavirus OC43

Respiratory Syncytial Virus B

Human Metapneumovirus

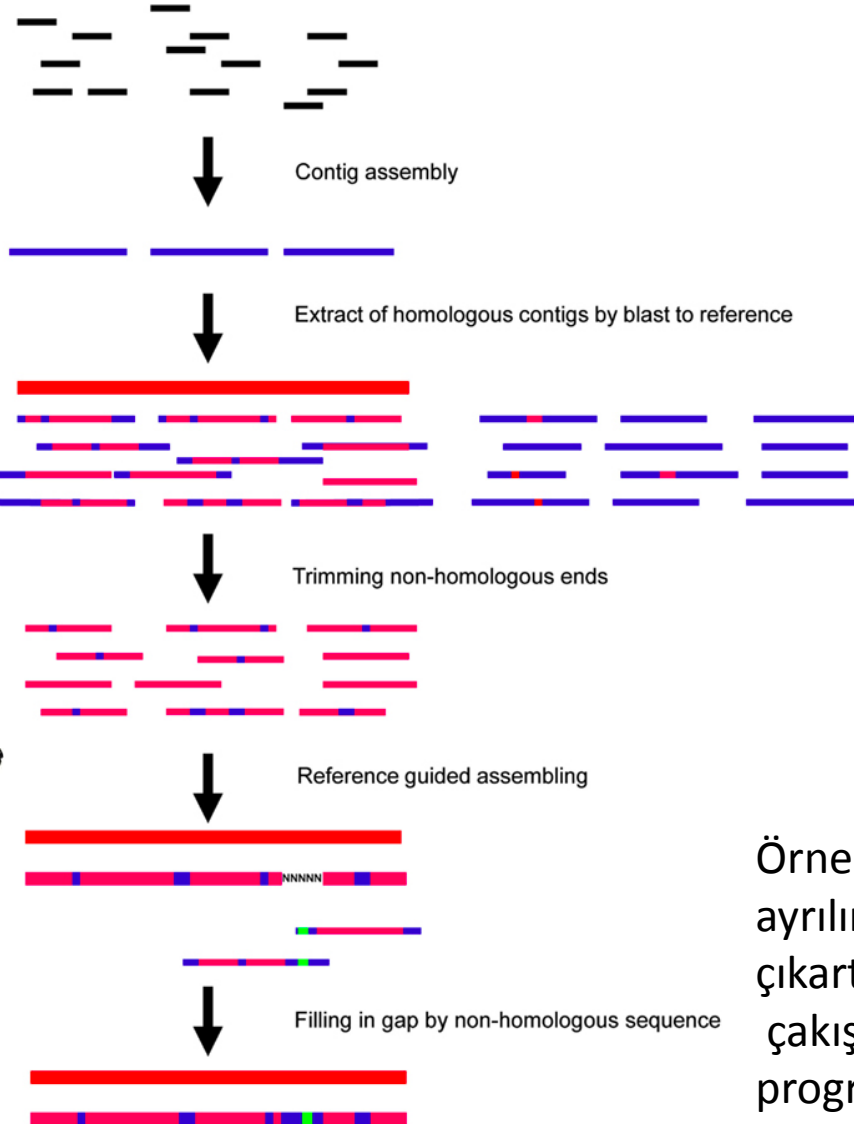
Human Bocavirus

Bacterial Targets

Chlamydomphila pneumoniae

Mycoplasma pneumoniae

Yeni Nesil Dizileme



“Shot gun sequencing”

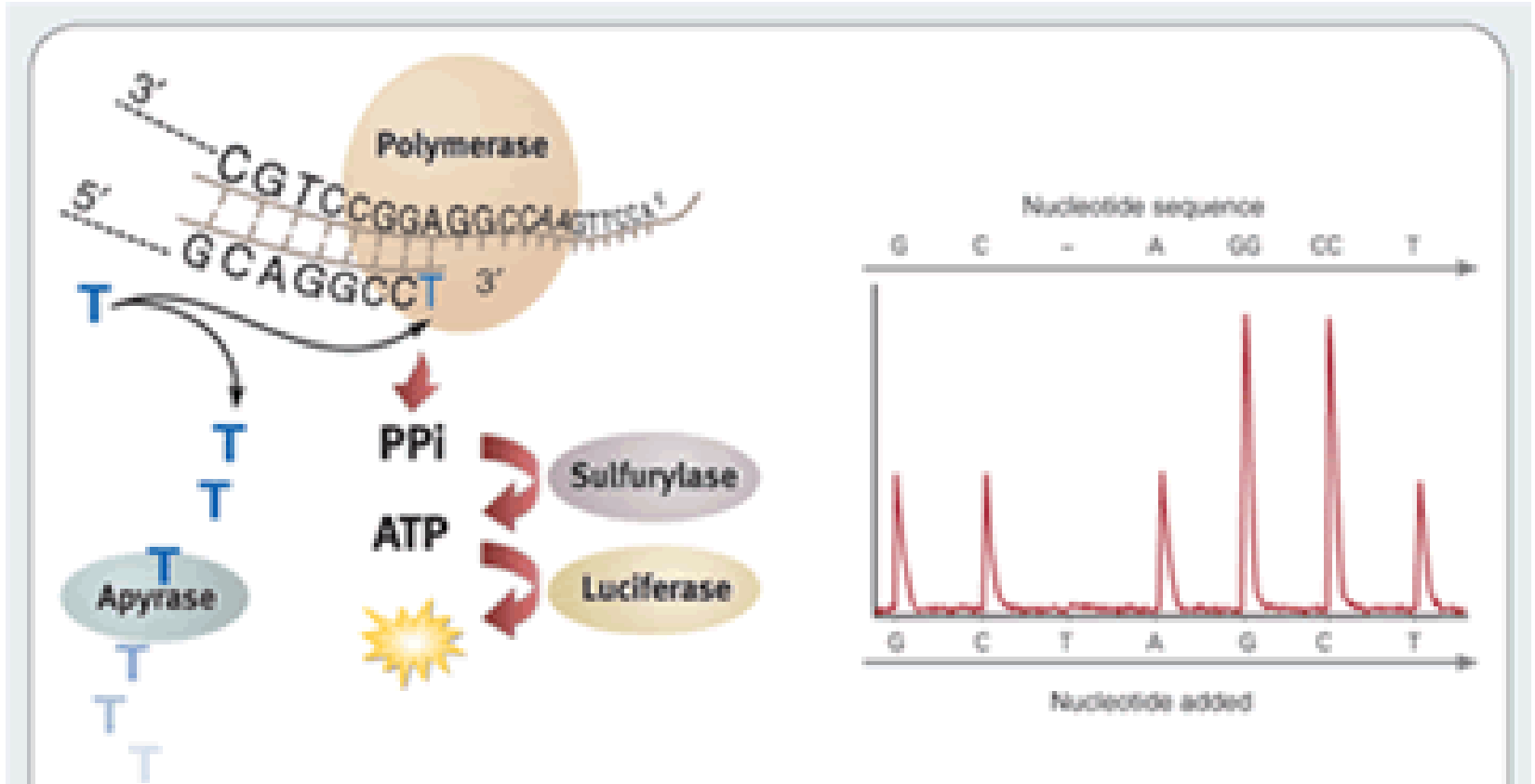
Rastgele atış



Örnekteki tüm DNA parçalara ayrılır. Hepsinin dizisi çıkartıldıktan sonra üst üste çakışan diziler biyoinformatik programı ile birleştirilir.

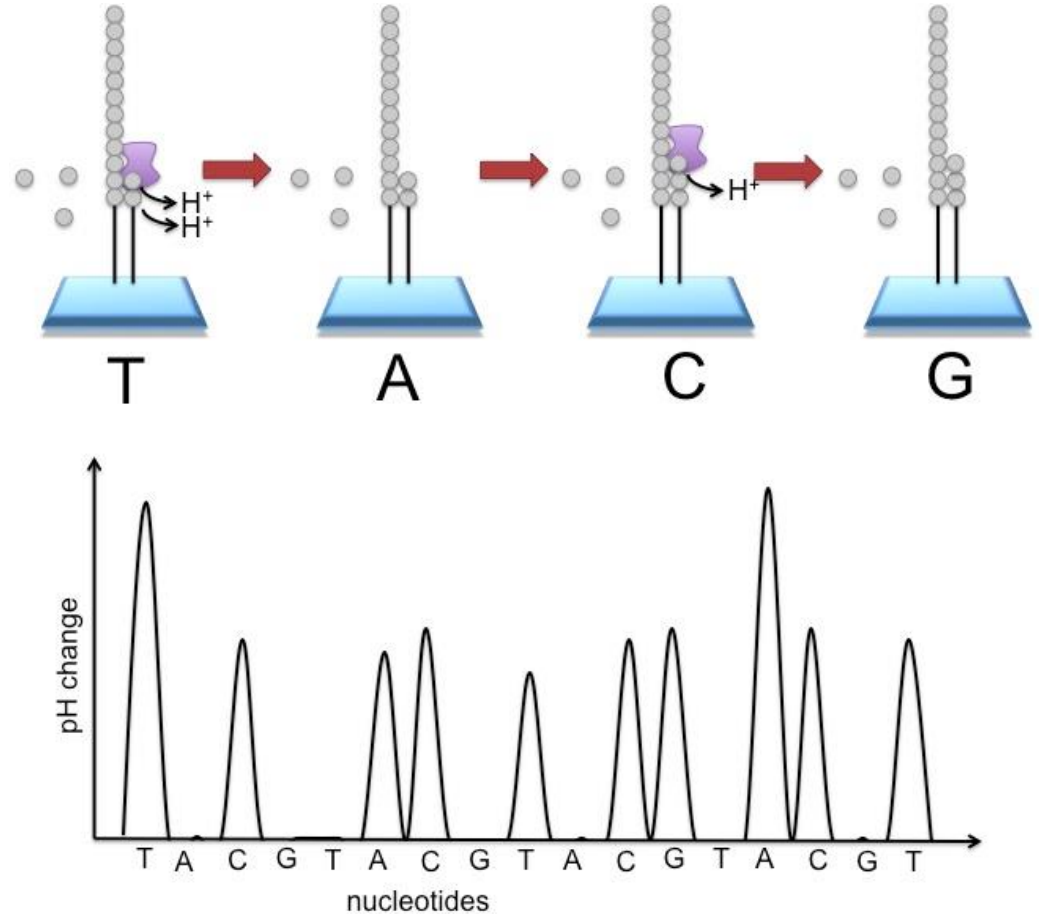
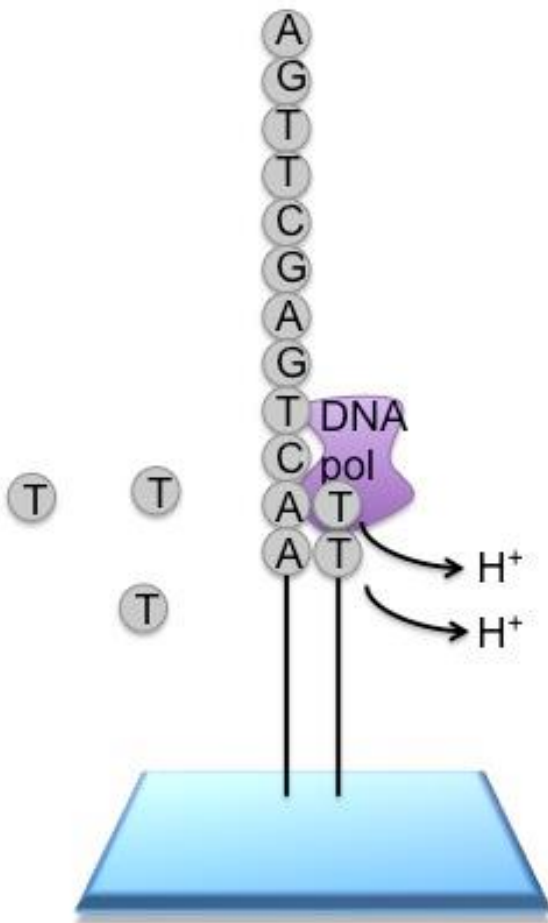
Piroduzileme

Küçük çukurlarda DNA sentezi yapılır. Nükleotitler tek tek sıra ile çukurlara eklenir. Polimeraz nükleotitleri eklerken pirofosfat açığa çıkar. Bu ortama konan sülfirilaz enzimi ile ATP oluşmasını sağlar. Yine ortamdaki Lusiferaz ATP yi kullanarak lusiferini oksitler ve bu sırada ışık oluşur. Işığın oluşması DNA dizisinde o sırada eklenen nükleotitin olduğunu gösterir. Aygıt çukurlardaki ışıkları okuyarak DNA dizisini belirler.



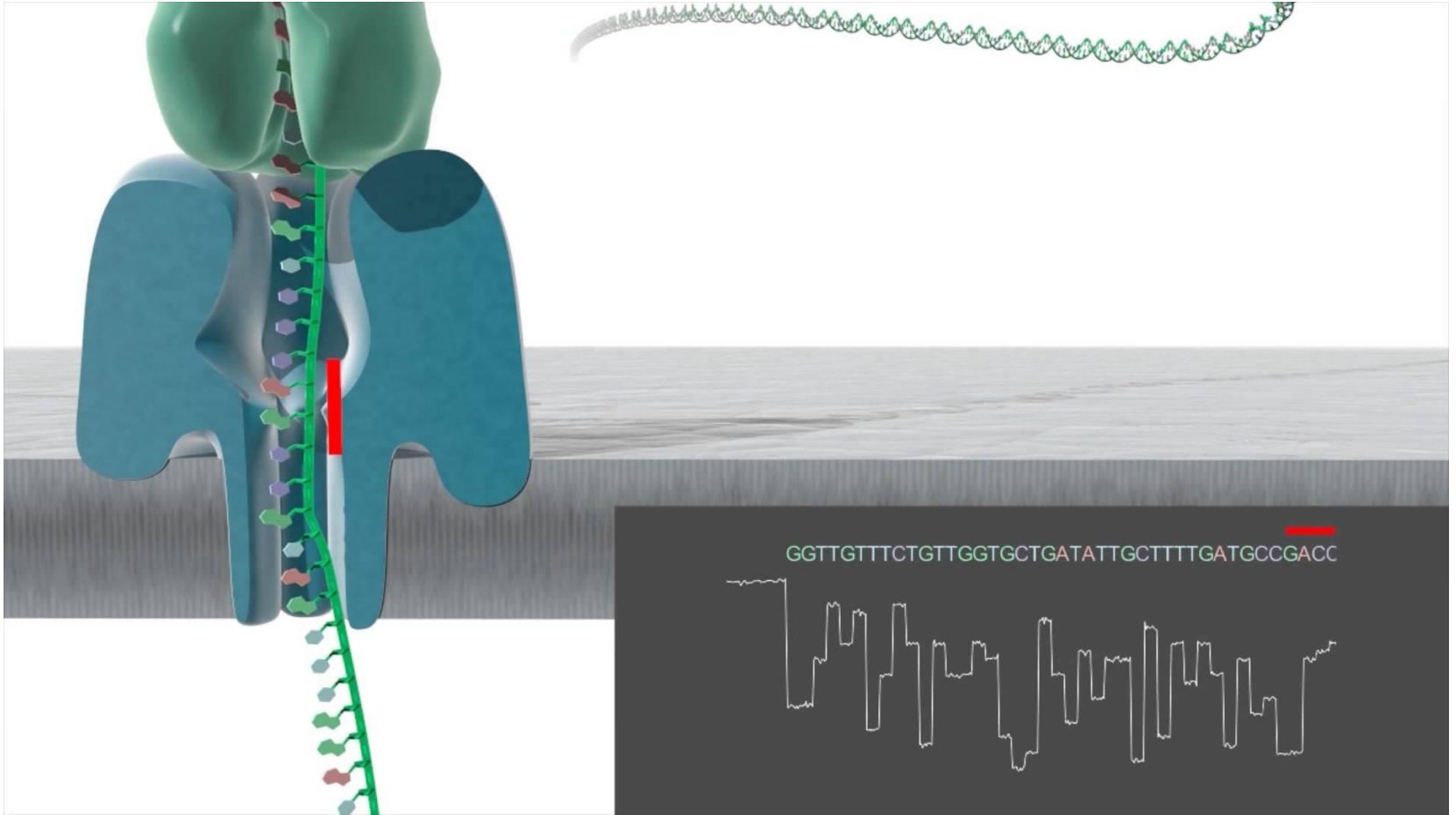
İyon duyarlı dizileme

Aygıtta pH'a duyarlı küçük çukurlar bulunur. Bu yüzeylerde DNA sentezi yapılır. Nükleotitler tek tek sıra ile çukurlara eklenir. Polimeraz nükleotitleri eklerken H^+ açığa çıkararak pH'ı düşürür. Hangi nükleotit ekleniyorsa ona göre DNA dizisi okunur. Her döngüde bağlanmayan nükleotitler çukurlar yıkanarak uzaklaştırılır.



Nanopor Dizileme

Nükleotitler nanopordan geçerken iki taraf arasında geçmekte olan elektrik akımını kesme miktarına bakılarak hangi nükleotidin geçmekte olduğu belirlenir.





Sendromik Tanı Testleri

- Avantajları:

Hızlı, kolay, çok etkeni aynı anda saptayabiliyor. Doğru ve hızlı tedaviye başlanmasını sağlıyor. Gereksiz antibiyotik kullanımını önüyor.

- Dezavantajları:

Pahalı; taşıyıcı mı, hasta mı ayırt etmiyor.

Yeni nesil dizileme yöntemleri ortaya çıkınca “akciğer mikrobiyomu” diye bir gerçek ortaya çıktı. Sağlıklı kişide steril diye düşündüğümüz akciğerde çok çeşitli mikroorganizmaların, akciğerin normal florasının olduğu gösterildi.

Olması Gereken Sendromik Yaklaşım

- Hastalık öyküsü: Akut mu, kronik mi?
- Epidemiyolojik öykü: Salgın var mı?
- Belirtiler ve bulgular nedir: Ateş, öksürük, balgam, burun akıntısı, boğaz ağrısı, boğazda kızarıklık, konjonktivit, kulak ağrısı, akıntısı.
- Basit hızlı testler yapılabilir mi? Mikroskopik inceleme, Strep A testi, akciğer grafisi.
- Bu değerlendirmeler ile ne kadarına tanı koyabiliyoruz?
- Sendromik testler bu aşamadan sonra çok yardımcı ve kullanımı akılcı.
- Sendromik testler ile saptanan patojenlerin o sırada hastada hastalık etkeni olup olmadığının çok iyi değerlendirilmesi gerekiyor.



Delikli demir çıksa da bize
Köroğlu'nun sanatçı yanı da
gerekli

Hatalık etkenini değil, hastayı tedavi edin... TEŞEKKÜRLER...



Antalya Belek 16 Mart 2019