İNFEKTİF ENDOKARDİT

VE DİĞER KARDİYOVASKÜLER İNFEKSİYONLARDA TARTIŞMALI KONULAR: MULTİDİSİPLİNER YAKLAŞIMLAR

İnfektif Endokardit Serolojik Tanı

Yusuf Ziya Demiroğlu

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

Mikrobiyolojik tanı

1. Etkenin görülmesi (mikroskopi)

2. Etkenin üretilmesi (kültür)

3. Etkenin genetik materyalinin gösterilmesi (moleküler yöntemler)

4. **Etkenin antijenik yapısının veya ona karşı oluşmuş antikorların saptanması**

   (serolojik yöntemler)

Serolojik testler

- 1950’lerde serumda çalışıldığı için

- İn-vitro antijen-antikor birleşmesine dayanan, bu birleşmenin görülebilir, gözlemlenebilir, ölçülebilir hale getirilmesi esaslı immunolojik yöntemlerdir.

- Temel amaç bilinmeyen bir reaktifi (ör:Ab), bilinen bir reaktif (ör:Ag) kullanarak saptamak

Serolojik testler

Klasik yöntemler

- **Aglütinasyon testleri**
- Presipitasyon testleri
- Flokülasyon testleri
- Kompleman birleşmesi testi
- Hemaglütinasyon önlenim testi
- Hemadsorpsiyon önlenim testi
- Nötralizasyo testleri

Us D. Temel immunoloji 2016

Serolojik testler

İşaretli katı faz yöntemler

- ELISA
- **İmmünofloresans (IF) yöntemleri**
- Western Blot Yöntemi (WB)
- İmmünoblot yöntemi
- İmmünokromatografik yöntemler(ICA)
- Kemilüminesans Y (CLIA)
- Optik immünolojik Y
- ELFA (Enzim Bağlı Floresans Yöntemi)
- ELIspot
- Akım sitometri Yöntemi
- Multiplex Floresan Mikropartikül Yöntemi (MMIA)
- Floresans Polarizasyon yöntemi (FPIA)

Us D. Temel immunoloji ve Seroloji 2016

Serolojik testlerde sınırlayıcı faktörler

1. **Çapraz reaksiyon varlığı** (ör:Brusella türleri ile Chlamidia, Riketsiya türleri ile Proteus vulgaris)

2. **Heterofil antikor varlığı;** serumda bulunabilen ve farklı türlerin antijenleri ile çapraz reaksiyonlar verebilen antikorlar. Engellemek için adsorban serum kullanılır.

3. **Prozon ve postzon olayı:** Test edilecek olan analit (Ab veya Ag) miktarı çok yüksek olduğunda. Engellemek için Coomb's serumu (anti-insan Ig G) kullanılır.

Us D. Temel immunoloji ve Seroloji 2016

Serolojik testlerde sınırlayıcı faktörler

4. Romatoid Faktör (RF) varlığı: RF konağın kendi Ig G antikorlarının Fc kısmına karşı oluşan Ig M tipi otoantikorlardır. Etkene özgü Ig M araştırılan testlerde yalancı pozitifliğe neden olur. Hasta serumu testen önce RF absorbans serumu (konsantre Ig G içeren) ve Coombs serumu ile muamele edilir.

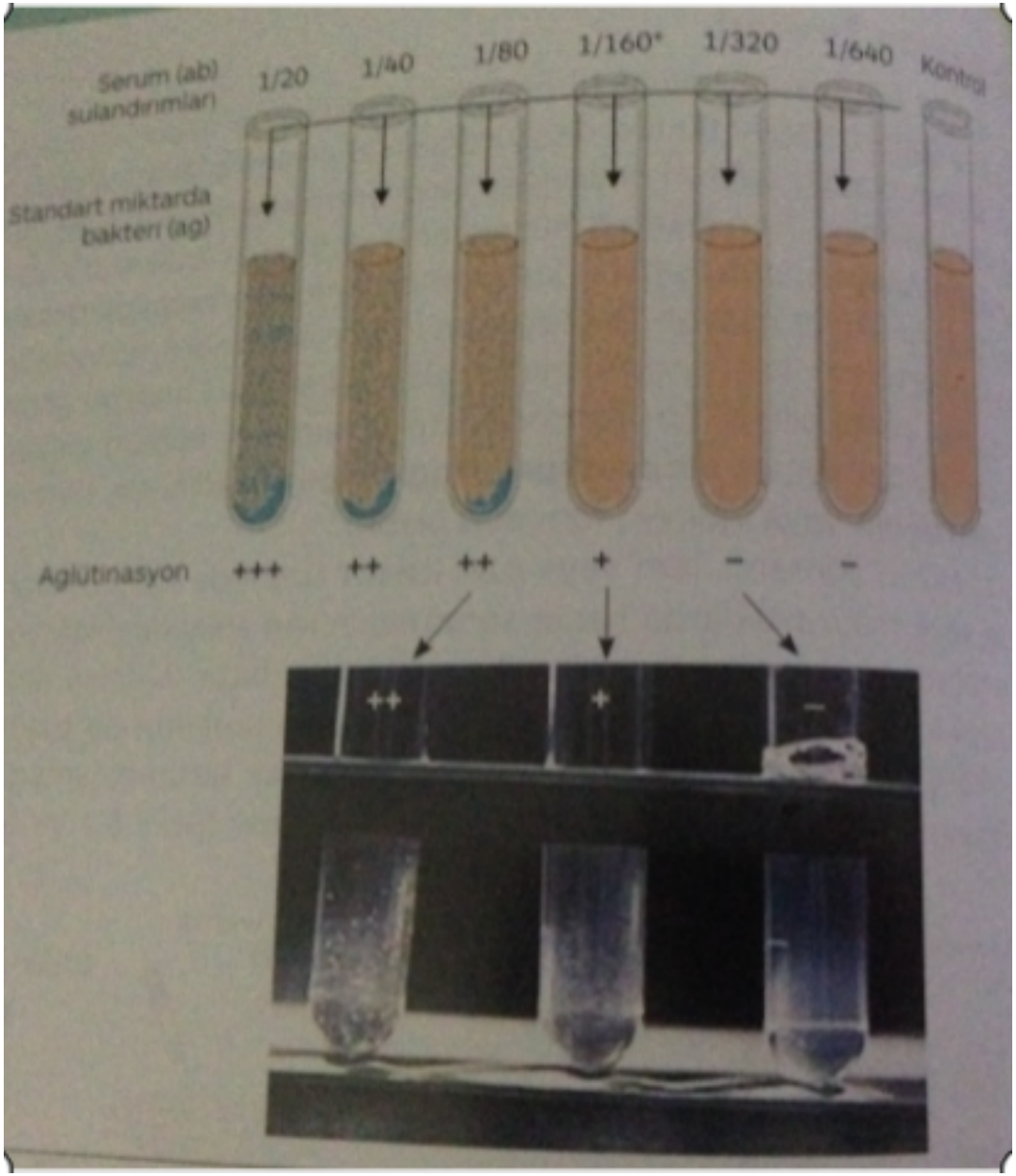
5. Poliklonal B hücre aktivasyonu: Bazı etkenler (örn: EBV) ve antijenler B hücrelerinde poliklonal aktivasyona neden olur. Özellikle EMN esnasında birçok etkene (kızamık, rubella vb) karşı özgül olmayan Ig M pozitifliklerioluşur.

Us D. Temel immunoloji ve Seroloji 2016

Aglütinasyon testi

- **Aglütinasyon rx**, partikül halindeki Ag'lerin özgül Ab larla birleşmesi ve çapraz bağlar oluşturarak kümeleşmesi esasına dayanır. Partiküler Ag olarak bakteri hücresinin kendisi veya eritrositler veya taşıyıcı partiküller kullanılır.
- **Direkt aglütinasyon (bakteri)**
- **Hemaglütinasyon (eritrosit)**
- **İndirekt (pasif) aglütinasyon (latex, betonit, kömür)**
- Lam ve özel kartlarda kalitatif olarak veya tüplerde ve mikroplaklarda hasta serumunun seri sulandırımı yapılarak kantitaif olarak uygulanabilir**.**

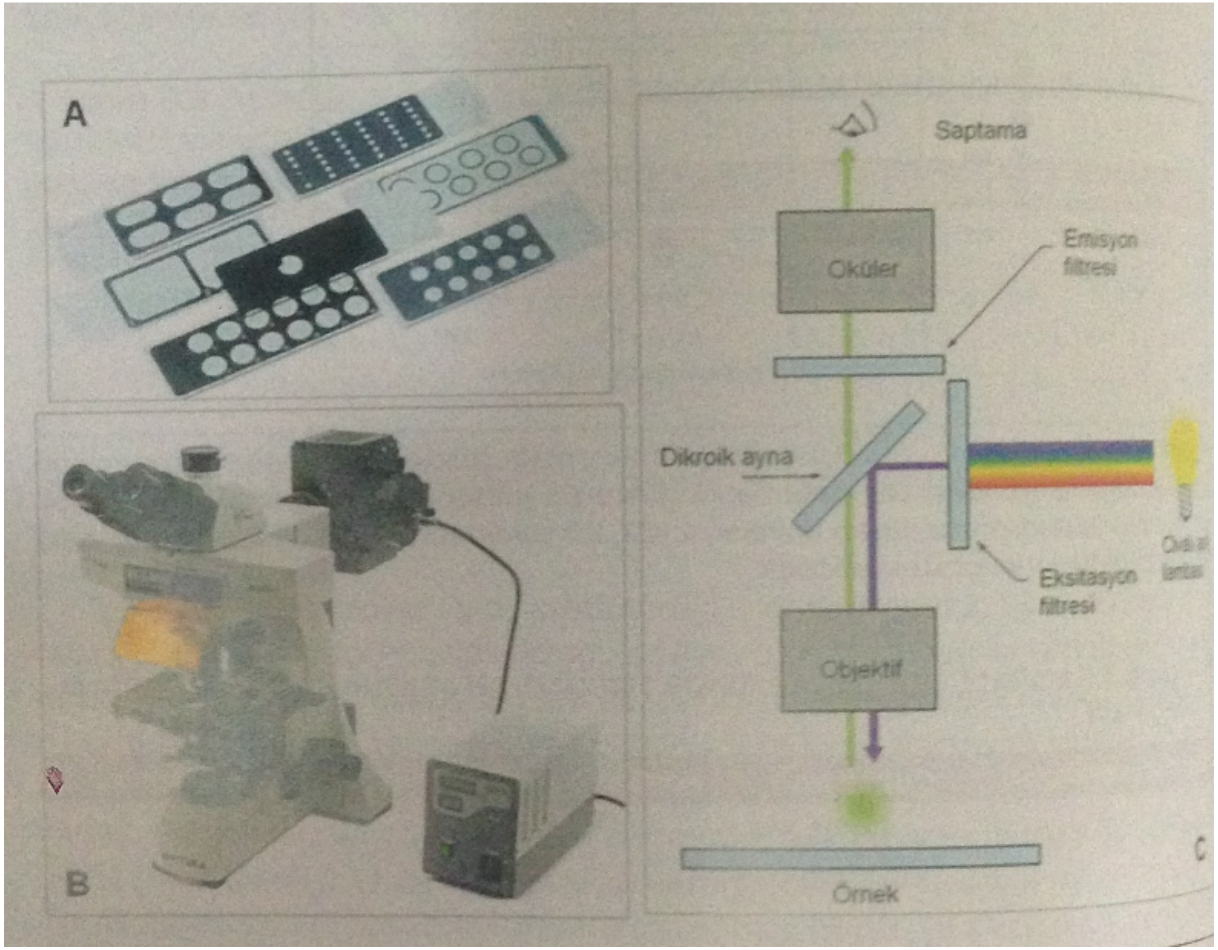
Us D. Temel immunoloji ve Seroloji 2016



Us D. Temel immunoloji ve Seroloji 2016

İndirekt floresan antikor yöntemi (IFA)

- Serumda Ab tespit amacıyla kullanılır. Lamlar üzerine istenilen Ag lerin fikse edilmesiyle hazırlanır. Hasta serumu bu lamlar üzerindeki özel alanlara damlatılır ve inkübe edilir. PBS ile yıkama işleminden sonra FTIC (floresan izotiyosiyanat) ile işaretli anti-insan antikoru (konjugat) eklenir. Tekrar inkübasyon ve yıkama işlemi yapılır. Preparatın kuruması beklenmeden gliserol damlatılarak lamelle kapatılır ve floresan mikroskopta incelenir.



Us D. Temel immunoloji ve Seroloji 2016

İE'de mikrobiyolojik tanı ?

- 26 İspanya H, 2000 hasta, prospektif, 2008-2012
- 290 (% 14,8) Kan kültür negatif
- Etiyolojik tanı; PCR, seroloji ve diğer yöntemler ile 121 (%6,1)
- **Grup A** ; 175 Mikrobiyolojik tanı olmayan
- **Grup B**; 1825

	Grup A	Grup B	P
EuroSCORE	23,6± 21.8	29,6±25,2	0,02
Charlson ındex	1,9 ± 2,0	2,3 ±2,1	0,03
Mortalite	%33,1	%26,7	0,07
Kalp yetmezliği	% 53	%40	0,005

Pablo Díez-Villanueva. Int Journal of Cardiology 2016

Kan kültür negatif infektif endokardit (KKNİE)

- **% 2,5-31**

<u>Nedenler</u>

- Zor üreyen bakteriler
- Bakteri dışı etkenler, örnek: mantarlar
- Kan kültür öncesi AB almış olmak
- Sağ kalp endokarditi
- Pacemaker'lı hastada İE

Houpikian P. Medicine 2005

Kan kültür negatif endokarditte araştırılması önerilenler

Patojen	Tanı yöntemi
Brucella spp.	Kan kültürü, **seroloji**, İmmunohistoloji ve cerrahi materyalde PCR
Coxiella burnetii	**Seroloji** (faz I Ig G ≥ 1/800), doku kültürü, İmmunohistoloji ve cerrahi materyalde PCR
Bartonella spp.	Kan kültürü, **seroloji,** kültür, immunohistoloji ve cerrahi materyalde PCR
Tropheryma whipplei	Cerrahi materyalde PCR ve histoloji
Mycoplasma spp.	**Seroloji**, kültür,immunohistoloji ve cerrahi materyalde PCR
Legionella spp.	Kan kültürü, **seroloji,** kültür, immunohistoloji ve cerrahi materyalde PCR
Funguslar	Kan kültürü, **seroloji** ve cerrahi materyalde PCR

Habib G. European Heart Journal (2015)

KKNİE

- Nisan 1994- Aralık 2004, Marsilya/Fransa
- Prospektif
- 1998 şüpheli İE
- Kan kültürü ve kapak incelemeleri dışında serolojik testler rutin *(Coxiella burnetii*, *Bartonella spp*., *Aspergillus* spp. *Legionella pneumophila* ve RF)
- 427 (%21,4) kesin İE, 261 (%13) olası İE
- Kesin İE olgularının 397'sinde (%93) etiyoloji
- Kan kültürü 348 (%81,5), seroloji 34 (%8), kapak incelemesi 15 (%3,5)
- **Serolojinin katkısı %8**

Raoult D. J. CLIN. MICROBIOL. 2005

Brusella endokarditi

- Bruselloz olgularında endokardit % 1*

- Türkiye’de İE’in en sık 4. etkeni (325 olgu, 2000-2013)**

** Yüce A, Klimik Dergisi 2006*
***Yavuz SS. International Journal of Infectious Diseases 2015*

Brusella endokarditi

2006-2011, 19 merkez 53 Brusella endokardit**

- 19 K, 34 E, yaş ort: 45.3 ± 14,8 (20-81)
- **Pastörize olmayan süt / ürünü tüketimi** %62,8
- **Hayvancılık** %24,5
- **% 60,4 (32) 'ünde kapak problemi**, (18 romatik, 11 dejeneratif, 3 kojenital)
- 29 (%54,7) akut, 22 subakut (%41,5), 2 kronik
- Aort kapak %49,1 (26)
- Mitral kapak %43,4 (23)
- Triküspit kapak %5,7 (3)
- 1 vaka mitral + aort

*** Koruk ST. International Journal of Antimicrobial Agents 2012*

- ***Brucella spp*. %54,7 olguda izole edilmiş**
- 4/4 kemik iliği, 4/12 kapak
- TTE ; 47/52 vejetasyon (%90,4),
- TÖE ; 40/42 (%95,2)
- Vejetasyon çapı
- 10-20 mm %56,6 (30), < 10 mm %28,3 (15)

> 20 mm %15,1 (8)

Table 3
Serological test used in the diagnosis of *Brucella* endocarditis.

Method	Total	Positive [*n* (%)]
Rose Bengal	34	33 (97.1)
STA ≥160	52	49 (94.2)
Coombs ≥160	21	19 (90.5)
Brucella IgM	7	6 (85.7)
Brucella IgG	7	6 (85.7)

STA, standard tube agglutination; Ig, immunoglobulin.

Brusella endokarditi

- Brusellozda kan kültür pozitifliği %15-70
- BACTEC ile 7 günde %90 üreme
- Gram NB tanımlamasında kullanılan hazır ticari kitler tanımlayamamakta
- API 20NE sisteminde yanlışlıkla *Moraxella phenylpyruvica;*
- COMBO tip 5 (Dade-Microscan) sisteminde *Moraxella*;
- Haemophilus-Neisseria tanımlama panelinde (Dade-Microscan) ise *Haemophilus influenzae biotip IV* olarak tanımlanmaktadır

Winn WC Jr, In: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 2006,

Brusella - serolojik tanı

Rose-Bengal testi; lam aglütinasyon testi

- B. abortus'un asit tampondaki süspansiyonu kul.
- Özgüllüğü %75-91, Tarama testi

Standart Tüp Aglütinasyon testi (STA, Wright)

- S-LPS' karşı oluşan total Ab'lar (Ig G, Ig A ve Ig M)
- Negatiflikte blokan Ab veya prezon fenomeni?
- **Coombs testi** blokan Ab ve prezon fenomenini ortadan kaldırır.

Merkaptan testleri; 2-ME ve dithiothreitol (DTT) kullanılarak yapılan bu yöntemde, IgM antikorlarının disülfit bağları indirgenir. Ig G yapısındakii Ab'lar etkilenmez.

Alışkan E. MİKROBİYOL BÜL 2008

Brusella - serolojik tanı

Yalancı pozitiflik

- *Francisella tularensis*
- *Escherichia coli O157*
- *Escherichia hermanni*
- *Salmonella O:30*
- *Vibrio cholerae O-1*
- *Yersinia enterocolitica O:9*
- *Stenotrophomonas maltophilia*

Yalancı negatiflik

- Prezon
- Blokan Ab varlığı
- *B.canis* enfeksiyonu
- Erken dönem
- Agamaglobulinemi

Corbel MJ. Emerg Infect Dis 1997

Brusella-serolojik tanı

- **Dipstick testi**: immünokromatografik
- **Akım yöntemi** (Flow assay): immünokromatografik
- **ELİSA**
- **Brucellacapt ;** hemaglütinasyon

	Akut Brusselloz		Kronik Brusselloz	
Yöntem	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Kan ve kemik iliği kültürü	53	100	5	100
STA ≥160	92	100	45	100
ELISA IgG ≥1.600 mg/dL	98	98	100	98
ELISA IgM ≥100 mg/dL	100	36	82	36
ELISA IgA ≥100 mg/dL	99	89	89	100

Brusella - serolojik tanı

Comparison of SAT and ELISA IgG/IgM tests in patients with positive Brucella blood cultures

	SAT		ELISA			
	Positive	Negative	IgG	IgM	IgG+IgM	Negative IgG and IgM
						4
						68

	STA (%)	ELISA Ig G	Ig M	Ig M +G
Duyarlılık	95,6	45,6	79,1	94,1
Özgüllük	100	97,1	100	97,1
PPD	100	45,2	100	63,01
NPD	99	97,1	98,6	99

Memish ZA. Diagn Microbiol Infect Dis. 2002

Brusella - serolojik tanı

Rose Bengal ve STA-Wright testinin duyarlılığı?

- 30 Kan kültür (+) bruselloz
- 280 Bruselloz ile karışabilecek hst. (20 milier TB, 33 sıtma, 20 tifo, 20 ESH, 50 RA, 27 sarkoidoz, 63 lenfoma, 47 SLE)
- Rose-Bengal ve Wright testi (≥1/160) tüm bruselloz olgularında pozitif
- Sadece; 1 sıtma olgusunda ve 1 lenfoma olgusunda 1/40, 1 tifo olgusunda 1/20

Mert A. Diagn Microbiol Infect Dis. 2003

KKNİE etiyolojisi

Etken	Yaklaşık olarak sıklığı (%)
Coxeilla burnetii	37
Bartonella türleri	12
Legionella türleri	<1
Mycoplasma türleri	<1
Chlamidya türleri	<1
Mycobacteri türleri	<1
Tropheryma whipplei	2-3
Mantarlar	1-2
Zor üreyen bakteriler	2-3
Etken saptanamayan	37
Enfeksiyon dışı	2-3

Subedi S. Heart, Lung and Circulation, 2017.

KKNİE

- Fransa, Ulusal refans laboratuvarı
- 01 Ocak 1983- 31 Mayıs 2001
- En az 3 kan kültürü negatif (7 günlük inkübasyon)
- 348 KKNİE
- İFA ; *C. burnetii, Bartonella quintana, Bartonella henselae, and Legionella pneumophila.*
- *C. brunetii* için faz I Ig G ve *Bartonella* türleri için Ig G ≥ 1/800
- Legionella için Ig G ≥ 1/ 256
- Brusella spp; Ig G ≥ 1/ 200

Houpikian P. Medicine 2005

TABLE 1. Diagnostic Investigations and Causative Organisms in 348 Patients With Blood Culture-Negative Endocarditis

Diagnostic Test	Positive Result
Serology	268
*Coxiella burnetii**	167
Bartonella spp.†	**99**
Mycoplasma hominis	1
Legionella pneumophila	1
Blood culture	28
Coxiella burnetii	17
Bartonella spp.	10
Escherichia coli	1
Valve culture	60
Coxiella burnetii	44
Bartonella spp.	15
Tropheryma whipplei	1
PCR from valve	**96**
Coxiella burnetii	41
Bartonella	47
Tropheryma whipplei	2
Mycoplasma hominis	1
Abiotrophia elegans	1
Streptococcus bovis	2
Streptococcus mutans	2

Houpikian P. Medicine 2005

Coxiella burnetii endokarditi

- 167 olgunun **%75'i (125) erkek**, yaş ort 56 ± 17
- **Bilinen kalp kapak hst %91'inde**
- %14 (22) konjenital malformasyon
- %16 (27) mekanik prostetik kapak
- %28 (47) biyoprotez kapak
- **Kırsalda yaşama %51**
- **Evcil hayvan ile temas %70** (90/128)
- **Çiğ sütten peynir tüketimi %30**

Houpikian P. Medicine 2005

Positive test	Total (1,998)	Duke classification (no. of cases)		
		Definitive IE (427)[a]	Possible IE (261)[a]	Rejected IE (1,310)
Blood culture	432	348	20	64
Major criterion	262	239	12	11
Minor criterion	170	109	8	53
Serology	57	34 (30)	2 (2)	21
C. burnetii major	33	26 (22)	1 (1)	6
Bartonella (titers of ≥400)	5	5 (5)	0	0
Legionella	11	2 (2)	0	9
Aspergillus	1	1 (1)	0	0
Chlamydia	2	0	1 (1)	1
Mycoplasma pneumoniae	4	0	0	4
Brucella	1	0	0	1
Rheumatoid factor	164	48 (8)	20 (17)	96
Total no. of upgraded cases		38	19	

[a] Values in parentheses are numbers of cases upgraded in the Duke criteria by test results.

Raoult D. J. CLIN. MICROBIOL. 2005.

Coxiella burnetii

- *Proteobacteria*, gama alt grubunda *Legionellales* takımında
- Zorunlu hücre içi, küçük (0,2-0,4µm), pleomorfik, gram negatif, kokobasil, hareketsiz, kapsülsüz
- Hücre duvarı GNB benzer şekilde peptidoglikan, protein ve LPS
- Gram boyama ile boyanmaz (GNB benzer dış membrana sahip olmasına karşın)
- Castaneda ve Gimenez boyanır.
- Konak hücre fagolizozomlarında üreme yeteneği

Kılıç S. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 2008

Coxiella burnetii

- Yaygın (Yeni Zellanda dışında her yerden bildirim)
- Ana rezervuar sığır, koyun ve keçi
- Tüm evcil memeliler, deniz memelileri, sürüngenler, keneler ve kuşlar
- Enfekte hayvanların idrar, dışkı ve sütleri yüksek konstrasyonda bakteri içerir.
- İnsanlara çoğunlukla enfekte hayvanların doğum / düşük materyalinin aerolize olmuş bakterilerinin inhalasyonu ile bulaşır.

Eldin C. Clin Microbiol Rev. 2017

Kılıç S. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 2008

Coxiella burnetii

- 1950 yılı, Portekiz, insanlarda yapılmış deney
- 51 gönüllü
- 10 kişiye intranasal inoküle
- 11 kişiye enfekte yiyecek
- 29 kişiye intradermal
- **Serokonversiyon;**
  - İntradermal % 100
  - infekte yiyecek %27
  - intranasal %20

Eldin C. Clin Microbiol Rev. 2017

Coxiella burnetii

- Rutin kültürlerde üretilemez

- Üretilebilmesi için; makrofaj benzeri tümor hücreleri, fare embriyonu fibroblast hücreleri (L929), vero ve human embriyonik akciğer (HEL) fibrolast hücre serileri, kene doku kültürleri, embriyonlu yumurta ve laboratuvar hayvanları (fare ve kobay) kullanılır.

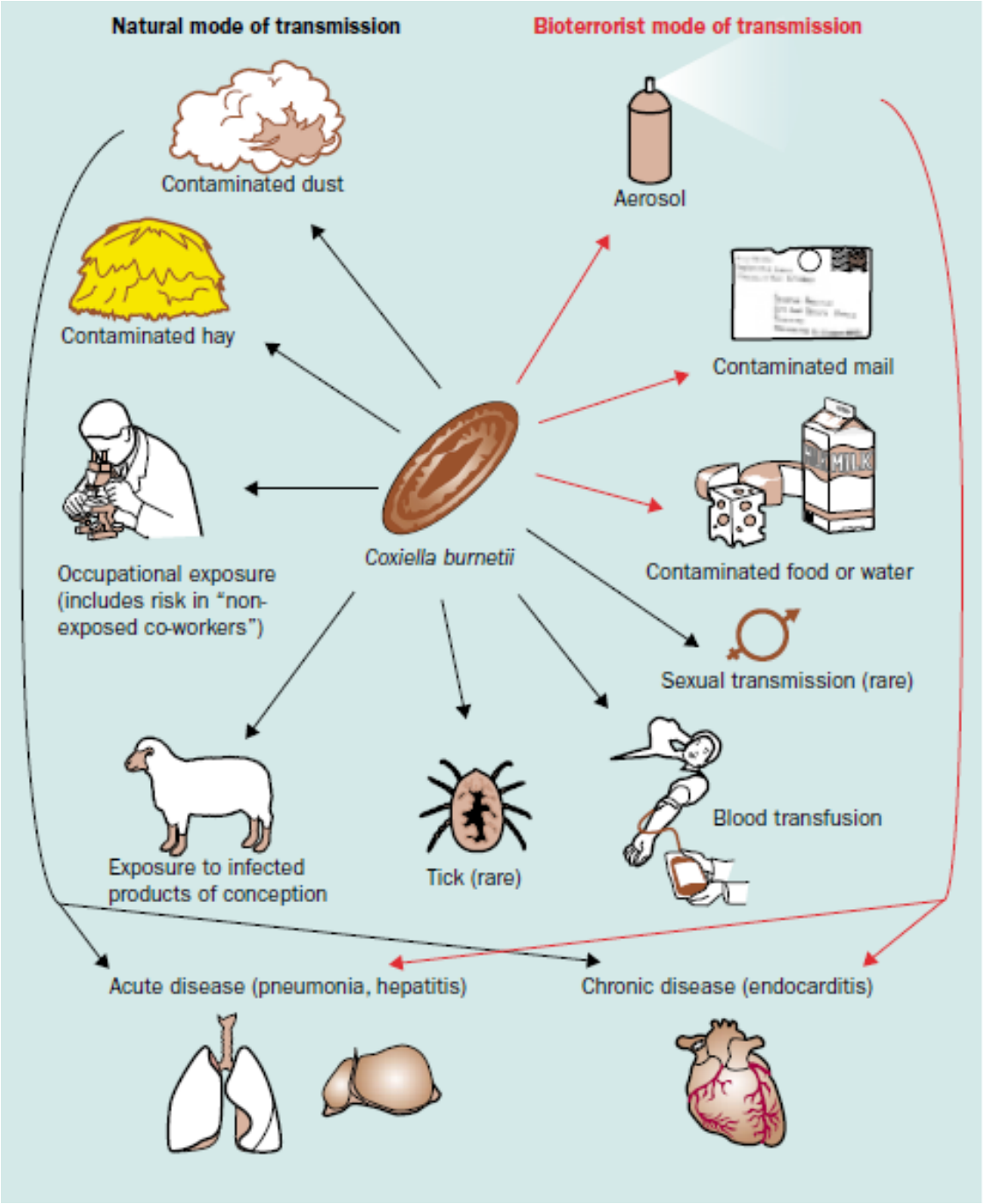
Kılıç S. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 2008

Coxiella burnetii

<u>Konağa bağlı faz varyasyonu</u>;

- Faz I; İnsan, hayvan ve artropodlar , enfeksiyözite
- Faz II; LAB (Hücre kültürü ve embriyonlu yumurtalardaki seri pasajlarda)
- Bu fenomen major virülans determinantı olan LPS sentezleyen enzimleri kodlayan genlerdeki mutasyona bağlıdır.
- İki faz arasındaki geçiş immun yanıttan kaçış ile ilişkili

Kılıç S. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 2008


Natural mode of transmission
Bioterrorist mode of transmission
Contaminated dust
Aerosol
Contaminated hay
Contaminated mail
Occupational exposure (includes risk in "non-exposed co-workers")
Coxiella burnetii
Contaminated food or water
Sexual transmission (rare)
Exposure to infected products of conception
Tick (rare)
Blood transfusion
Acute disease (pneumonia, hepatitis)
Chronic disease (endocarditis)

Ülkemizde *Coxiella burnetii*

- 1947 yılından beri bilinmekte (Payzın)
- Hem hayvanlarda hem insanlarda
- Bölgelere göre değişmekle birlikte
  - genel populasyonda seroprevalans %15,
  - risk gruplarında %30

Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 2008

Tablo 2. Türkiye'de Yayımlanmış Akut Q Ateşi Olgularının Kronolojik Sınıflanması

Bulaşın Coğrafi Bölgesi	Yayın Yılı	Olgu Sayısı	Erişkin/ Çocuk	Cins (E/K)	Klinik Görünümler	Salgın/ Sporadik	Tanı Yöntemi	Kaynak
Ankara	1948	1	Erişkin	1/0	Pnömoni	Sporadik	KB	(5)
Ankara	1948	50	Erişkin	VY	Pnömoni	Sporadik	KB	(6)
İzmir	1948	11	Erişkin	3/3 (5 VY)	4 pnömoni, 7 ateşli hastalık	Sporadik	KB, kobay	(7)
Aksaray, Ozancık köyü	1948	21	Erişkin	9/12	5 pnömoni, 16 ateşli hastalık	Salgın	KB, kobay	(8)
İstanbul	1949	2	Erişkin	1/1	Pnömoni	Sporadik	KB	(9)
İstanbul	1949	2	Erişkin	0/2	Pnömoni	Sporadik	KB	(10)
Ankara	1950	1	Erişkin	1/0	Pnömoni	Sporadik	KB, kobay	(11)
İzmir	1950	2	Erişkin	1/1	Pnömoni	Sporadik	KB	(12)
Ankara	1950	1	Erişkin	0/1	Pnömoni	Sporadik	KB	(13)
Ankara	1951	1	Erişkin	0/1	pnömoni	Sporadik	KB	(14)
İzmir	1961-1964	8	Çocuk	4/4	4 pnömoni, 4 aseptik menenjit	Sporadik	KB	(15)
Ankara	1973	2	Erişkin	2/0	Pnömoni	Sporadik	KB	(16)
Şırnak	1992	1	Erişkin	1/0	Akut hepatit	Sporadik	KB	(17)
Kütahya	1999	1	Erişkin	1/0	Pnömoni-hepatit	Sporadik	IFA, ELISA	(18)
Tokat ve çevre iller	2002	6	Erişkin	2/4	5 hepatit, 1 pnömoni-hepatit	Sporadik	IFA	(19,20)
İstanbul	2010	1	Erişkin	1/0	Kolestatik hepatit	Sporadik	KB, IFA, PCR-Kİ	Olgumuz
Toplam		111	103/8	27/29 (55 VY)		21/90		

E: erkek, K: kadın, VY: veri yok, KB: kompleman birleşmesi, İFA: indirekt immünofluoresan antikor, ELISA: "enzyme-linked immunosorbent assay", PCR: polimeraz zincir reaksiyonu, Kİ: kemik iliği.

Yıldırmak T. Klimik Dergisi 2010; 23(3): 124-9

Ülkemizde *Coxiella burnetii*

The first case of chronic Q fever endocarditis and aortitis from Turkey: A 5-year infection before diagnosis with drain in sternum

Serap Şimşek Yavuz, Ezgi Özbek, Seniha Başaran, Bekir Çelebi[1], Ebru Yılmaz*, Murat Başaran, Berrin Umman***, Haluk Eraksoy**
Departments of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, *Nuclear Medicine, **Cardiovascular Surgery, ***Cardiology, İstanbul Faculty of Medicine, İstanbul University; İstanbul-*Turkey*
[1]Department of Reference Microbiology Laboratories, Turkish Public Health Institute; Ankara-*Turkey*

Anatol J Cardiol 2016; 16: 813-6

Coxiella burnetii-serolojik tanı

- Mikroaglütinasyon (MA)
- Kompleman Birleşme (KBT)
- **İndirekt İmmunofloresan (IFA)**
- ELISA
- Radioimmunoassay (RIA)
- Dot Immunoblot
- Western Immunoblot

Eldin C. Clin Microbiol Rev. 2017
Kılıç S. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 2008

Coxiella burnetii-serolojik tanı

- **Faz II Ig G** için eşleşmiş serum örnekleri ile (0 ve 3.ay) 62 serumda yapılan bir çalışmada IFA %100, ELISA % 95,2 ve KBT %96,8 doğrulukta saptamış. Fark anlamlı değil.
- Akut Q ateşinde ilk 3 ay için 3 serolojik test eşit değerde.
- **Persistant ve kronik Q ateşi**
- Faz I Ab'lar için KBT duyarlılığı % 83, ELISA %93,9
- KBT ile faz I Ig G % 16,3'ü saptanamamış.
- KBT persistan enfeksiyonun takibinde düşük duyarlılık

Wegdam-Blans MC. Clin Vaccine Immunol. 2012
Eldin C. Clin Microbiol Rev. 2017

Coxiella burnetii-serolojik tanı

- Faz II Ig M, 7-15 gün sonra oluşur, 4-8 hf'da en üst düzeye çıkar, 3-6 ayda azalır.
- Faz II Ig G antikorları daha geç ortaya çıkar, ömür boyu kalır
- Faz II Ig G ve Ig M'de 3-6 hf ara ile 4 kat titre artışı primer Q ateşi

<u>Cutt off ülkeler arasında farklı olmakla birlikte</u>

- Faz II Ig G ≥ 1/200
- Faz II Ig M ≥ 1/50

} primer enfeksiyon

Eldin C. Clin Microbiol Rev. 2017

Coxiella burnetii-serolojik tanı

- Akut Q ateşinde faz II'ye karşı oluşan antikor titresi daha yüksek iken, kronik Q ateşinde Faz I'e karşı gelişen antikorlar baskındır.

- Düşük titrelerde *Bartonell*a ve *Legionella micdadi ile* çapraz reaksiyon olabilir. Yüksek titrelerde genellikle sorun yaratmaz.

Q ateşinde IFA testinin tanısal titreleri

Evre	Faz I Antikorlar			Faz II Antikorlar		
	IgG	IgM	IgA	IgG	IgM	IgA
Akut	Pozitif ancak faz II antikorlardan daha düşük titrede	Pozitif ancak faz II antikorlardan daha düşük titrede	Pozitif veya negatif ancak faz II antikorlardan daha düşük titrede	>1:200*	>1:50*	Pozitif veya negatif
Kronik	>1:800	Pozitif veya negatif	>1:100†	Pozitif ancak faz I antikorlar ile aynı veya daha düşük titrede	Pozitif veya negatif fakat genellikle faz I antikor ile aynı veya daha düşük titrede	Pozitif ancak faz I antikor ile aynı veya daha düşük titrede

*Akut Q humması tanısında akut ve konvelesan dönemde alınan örneklerde negatiften pozitife değişen serokonversiyon veya 4 kat titre artışı tanısaldır.
† Kronik Q humması tanısında IgA titresinin tanısal değeri tartışmalıdır.

Kılıç S. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 2008

C. burnetii endokarditinde IFA testinin tanısal titreleri

	PPD
Faz I Ig G ≥ 1/800	%37
Faz I Ig G ≥ 1/6400	%75

Eldin C. Clin Microbiol Rev. 2017

KKNİE

- Cezayir,
- 108 vaka, 110 İE (77 kesin, 33 olası)
- Kan kültüründe üreme 48 olgu
- 62 KKNİE, Fransa'da seroloji ve moleküler testler
- 28 etiyolojik ajan, 18 zoonotik
  - ***Bartonella quintana* 14**
  - Brucella melitensis 2
  - Coxiella burnetii 2
- *Bartonella spp.*, kesin İE olgularının **%15,6'sı**

Benslimani A. Emerg Infect Dis. 2005

Bartonella türleri

- *Proteobacteria* alfa 2 sub grubunda
- Gram negatif (Gimenz ile daha iyi boyanma), pleomorfik basil, aerobik yada mikroaerofilik, müşkülpesent
- 45 tür (13'ü insanlarda etken)
- Üremesi için kalp-infüzyon agar, triptik soy agar, Brucella agar ve Colombia agar by.lerine %5 tavşan kanı yada % 5 hemoglobin eklenmeli
- %5 CO_2 , 35-37 °C 'de 21 gün (*B. bacilliformis* hariç
- Endokarditte kan kültüründe izole edebilme şansı %20, doku kültüründe %30

Okaro U. Clinical Microbiology Reviews 2017

Bartonella türleri

- ***Bartonella quintana***; spier ateşi, endokardit, kronik bakteriyemi, basiller anjiomatozis
- **daha çok evsiz, bit ile enfekte insanlarda**,

- ***Bartonella henselae***; kedi tırmığı hst, endokardit, basiller anjiomatozis, peliozis hepatit, osteomyelit
- **daha çok valvulopatisi olan, kedi teması olanlarda etken.**

Edouard S., Journal of Clinical Microbiology 2015.

Bartonella türleri

Endokardit olgularından nadiren bildirilmiş diğer türler;

- *Bartonella elizabethae*,
- *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii*
- *B. vinsonii* subsp. *arupensis*,
- *Bartonella koehlerae*,
- *Bartonella alsatica*
- *Candidatus Bartonella mayotimonensis*

Edouard S., Journal of Clinical Microbiology 2015.

İE'de *Bartonella* insidansı

- İsveç %0
- İngiltere %1,1
- Fransa %3
- Almanya %3
- Cezayir %15,6
- Tunus % 9,8

Edouard S., Journal of Clinical Microbiology 2015.

Bartonella tanı

- İFA
- Western Blott
- RT-PCR (kan yada kapak dokusundan)
- Zenginleştirilmiş kültürlerde (Doku)
- Dokuda Warthin-Starry boyası ve immunohisto-kimyasal inceleme

Edouard S., Journal of Clinical Microbiology 2015.

Bartonella tanı

106 *Bartonella* İE (2005- 2013, Marsilya)

*** İFA;** B. quintana ve B. henselae Ig G ≥ 1/100 (+)

Endokardit Ig G ≥ 1/800

*** Western Blot**

- *B.quintana* endokardit tanısı için 6 protein bandı (Bq83, Bq65, Bq45, Bq30, Bq20, Bq10)

- *B. henselae* endokardit tanısı için 4 protein bandı (Bh65, Bh45, Bh35, Bh23) reaksiyonu aranmış

Edouard S., Journal of Clinical Microbiology 2015

Bartonella tanı

	quintana	*henselae*	*alsatica*	*vinsonii*
Vaka sy	48	39	3	1
Yaş ort. (yıl)	54	49		
Cinsiyet (E/K)	43/5	26/13	2/1	1/0
Ig G ≥ 1/800	28/47	19/36	0/3	1/1
WB	35/35	28/28	3/3	1/1
PCR-kapak	26/27	19/20	1/1	*
PCR-kan	13/28	6/24	0/3	1/1
PCR-serum	13/32	12/24	0/1	0/1

91 olgu tür düzeyinde tanımlanabilmiş.

Edouard S., Journal of Clinical Microbiology 2015

Bartonella tanı

İFA; B. quintana ve B. henselae Ig G ≥ 1/100 (+)

Endokardit Ig G ≥ 1/800

Ocak 2005- Ekim 2013, Marsilya, 106 Bartonella endokardit olgusu

	Duyarlılık
İFA	58
Western Blott	100
RT- PCR- tam kan	33
RT- PCR-serum	36
RT-PCR- Kapak dokusu	91

Edouard S., Journal of Clinical Microbiology 2015

Bartonella tanı

Ig G titresi	Kesin İE	Total hasta s	PPD (kesin İE) %
1/100	93	461	20
1/200	87	267	32
1/400	72	133	54
1/800	59	63	**94**
1/1600	32	35	91
1/3200	9	9	**100**

Edouard S., Journal of Clinical Microbiology 2015

Bartonella tanı

<u>Öneri</u>

Bartonella İE için Major Duke kriterleri

- Kalp kapak yada kanda PCR (+)
- IFA Ig G ≥ 1/800
- Western Blot (+)

olsun.

Edouard S., Journal of Clinical Microbiology 2015

Mycoplasma türleri

- Literatürde Mycoplasma türleri ile bildirilen endokardit olgusu 11,
- 8'inde etken ***M.hominis***
- Hemen hepsinin öyküsünde **geçirilmiş kapak cerrahisi** mevcut, 1 olguda hem IVD ilaç hem de postpartum dönem
- Hemen hepsinde çıkarılan kapaktan yapılan PCR 16SrRNA ile tanı, bazı olgularda ek olarak seroloji (IFA ile Ig M ve Ig G) ve kapaktan kültür (Hayflick agar),

Kotaskova I. BMC Infect Dis. 2017
Fenollar F. Clin Infect Dis 2004

Legionella türleri

- Proteobacteria gama 2subgrup
- *Legionellaceae*; *Legionella*, *Fluoribacter* ve *Tatlockia*
- *Legionella* 60'tan fazla tür
- Gram negatif, aerobik, sporsuz, gnl kapsülsüz ve hareketli
- Üremeleri için tamponlanmış besiyerlerine L-sistein, demir, alfa ketoglutarat eklenmeli
- *Legionella pneumophila 16* serogrup
- Legioner hst %80'inden serogrup 1 sorumlu

Table I. Summary of 12 cases of Legionella endocarditis reported in the English-language literature and our case (case 13).

Case	Age and sex	Immuno-suppressed	Causative organisms	Valve type	Onset from the previous surgery	Blood culture	Valve culture	Serology (IgG)[a]	Pathology	Other positive tests	Antibiotics	Valve replacement	Initiation of appropriate antibiotics	Complication
1	33 M	No	L. pneumophila	Mechanical		Positive	Positive			Aortic graft	ERY 6 mo	Yes	After positive blood culture	Pseudoaneurysm
2	60 F	No	L. pneumophila	Porcine	5 days	Negative	Positive	1:8192	Silver stain (positive)	DFA	ERY 6 mo, RIF 2 mo	Yes	5 days after surgery	No
3	42 F	No	L. pneumophila	Native	N/A	Positive	N/A		N/A	BAL urine DFA	LFX 6 wk, RIF 6 wk	No	On admission	Pneumonia ARDS
4			L. pneumophila	Porcine			Positive	1:8192, 1:2048 (5 mo)	Annular, myocardial abscesses		ERY 14 mo, RIF 6 mo	Yes		
5			L. pneumophila	Mechanical		Negative	N/A	1:2048, 1:128 (9 mo)	N/A		ERY 8 mo, RIF 6 mo	No		
6			L. pneumophila	Porcine		Positive		1:32,768, 1:4096 (3 mo)			CIP 10 wk, RIF 10 wk	Yes		
7			L. pneumophila, L. dumoffii	Porcine		Positive	N/A	1:2048, 1:1024 (4 mo)	N/A		ERY 5 mo, RIF 5 mo	No		
8			L. dumoffii	Porcine			Positive	1:8192	Annular abscess	DFA of valve	ERY 6 mo, RIF 6 mo	Yes		
9			L. dumoffii	Porcine		Positive	Positive	1:4096, 1:1024 (2 mo)	Annular abscess	Sternal wound DFA of valve	ERY 9 mo, RIF 9 mo	Yes		
10			L. dumoffii	Porcine		Positive	Positive	1:256, 1:64 (2 mo)	Annular abscess	Pleural effusion DFA of valve	ERY 14 mo, RIF 14 mo	Yes		
11	63 M	Yes	L. micdadei	Bovine	13 mo	Negative	Positive		Silver stain (positive)	PCR (16S)	LFX, indefinitely	Yes	1 wk after surgery	No
12	65 M	No	L. micdadei	Mechanical	6 mo	Negative	Negative	1:8192, 1:256 (6 mo)			DOX	Yes	After elevated serology	Glomerulo-nephritis
13	57 F	Yes	L. micdadei	Mechanical	13 mo	Negative	Negative	Negative	Silver stain (positive)	PCR (16S)	LFX 5 mo	Yes	After positive	Brain abscess

Fukuta Y. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 2012

Legionella türleri-tanı

- **Tanı IFA**
- IFA ≥ 1/256 (+)
- Akut ve konvelasan serum örneklerinde en az 1/128 olacak şekilde 4 kat titre artışı tanı

Legionella tanı

Test	Specimen	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Laboratory turnaround time	Comments
Culture	Respiratory samples including sputum and BAL	<10–80*	100	3–7 days	Detects all species and serogroups. Species other than *L. pneumophila* may be detectable only after 10 days of incubation.[6]
DFA staining	Respiratory samples including sputum and BAL	25–70*	>95	<4 hours	Technically demanding. Sensitivity consistently less than for culture.
Antigen detection	Urine	70–90	>95	<3 hours	Only reliable for detection of *L. pneumophila* serogroup 1.
PCR	Respiratory samples including sputum and BAL	80–100	>90	<4 hours	Detects all species and serogroups.
	Serum	30–50	>90		
	Urine	46–86	>90		
Serology	Serum	60–80	>95	3–10 weeks	Must test both acute and convalescent samples. Interpretation of a single sample can be misleading.

BAL: bronchoalveolar lavage.
DFA: direct fluorescent antibody.
PCR: polymerase chain reaction.
*Depends on the severity of disease.
Source: Murdoch DR. Diagnosis of *Legionella* infection. *Clin Infect Dis* 2003; 36(1): 64–9.

Blyth CC. N S W Public Health Bull. 2009

Legionella türleri

- ***L.pneumophila*** 7 olgu, *L. dumoffi* 4 olgu, *L.micdadei* 3 olgu, 1 olguda hem *L. pneumophila* hem *L. dumoffi*
- **Sadece 1 olgu doğal kapak**
- Kapak replasman cerrahisi 7 olguda gerekmiş.
- Tanıya kadar geçen süre değişken; 10 gün- 7 ay
- Tanı ve uygun tedavideki gecikmelere rağmen tüm olgular **şifa**
- **1 olgu hariç hiçbirinde eşlik eden pnömoni yok**.

Fukuta Y. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 2012

Aspergillus türleri

- Fungal endokardit İE'lerin %1-10'u
- Mortalite > %50, Aspergilloza bağlı İE'de %90
- % 53-68 *Candida spp.*
- %20-25 *Aspergillus spp*.
- *Aspergillus fumigatus* %60-90, *A. terreus* %5-20
- *A. fumigatus*'un laminin ve fibrinojene bağlanma yeteneği
- Kültür pozitifiliği %11
- Cerrahiden 1 gün ile 24 yıl sonra bildirim var, ama çoğunlukla erken (60 günden az)

Pasha AK . Am J Med. 2016
Ismaïl El-Hamamsy, *Ann Thorac Surg 2005*

Aspergilloz endokarditi

Risk faktörleri

- Kapak cerrahisi geçirmiş olmak (%40-50)
- Kapak risk faktörleri (eski kapak cerrahisi, bakteriyel İE, römatik kalp hastalığı, MVP) olguların 2/3'ünde
- Malignite %18
- Santral venöz kateter (%10)
- Geniş spektrumlu AB öyküsü (%10)
- IV ilaç bağımlılığı

Ismaïl El-Hamamsy, *Ann Thorac Surg 2005*

Aspergilloz endokarditi

- 374 İE, 43 fungal, 31 AE
- Sağlık bakımı ilişkili, prostetik kapak endokarditi
- Mitral, non-vulvar ve aortotomi alanında vejetasyon, aortik abse/pseudoanevrizma anlamlı daha çok
- **Multivariable analizde** HAE, PVE, aortik abse/ pseudoanevrizma varlığı ve ateş yokluğunda AE olasılığı **%92.**
- Çalışmada AE için, Galaktomannan index > 1

Meshaal MS. PLoS One. 2018

Aspergilloz endokarditi

- Galaktomannan duyarlılığı düşük
- 8 Aspergilloz endokarditi olgusunun 6’sında test çalışılmış 4’ü pozitif. Ancak olguların 4’ü SOT.

Rivière SJ Infect. 2013

Aklımızda kalsın

<u>Kan kültürü negatif İE olgusunda</u>;

- Bruselloz için Wright testi (aslında öyküde risk tanımlamasa da)
- Taze peynir yeme, hayvan teması varsa Brusella wright testi ve Coxiella burnetii İFA
- Kedi teması ve valvulopati varsa, evsiz ise Bartonella spp için İFA
- Protez kapak varsa Mycoplazma, Legionella IFA
- Protez kapak ve sağlık bakımı ilişkili düşünülüyorsa Aspergillus