



★ Yoğun bakım enfeksiyonlarında hızlı tanı

Rabia CAN SARINOĞLU



Simpozyum 29

Yoğun Bakımda İnfeksiyon Tanısı ve Yönetimi



Yoğun Bakım Enfeksiyonları

- ❑ intravasküler kateterle ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları (Kİ-KDE),
- ❑ ventilatörle ilişkili pnömoni (VIP),
- ❑ kateterle ilişkili idrar yolu enfeksiyonları (Kİ-İYE),
- ❑ Çoklu ilaca dirençli (MDR)patojenler.

Daha geniş spektrumlu ampirik antimikrobiyal tedavi , antimikrobiyal direnç ve daha yüksek mortalite!!!!

Prevalence and Outcomes of Infection Among Patients in Intensive Care Units in 2017

Jean-Louis Vincent ¹, Yasser Sakr ², Mervyn Singer ³, Ignacio Martin-Loeches ⁴ ⁵, Flavia R Machado ⁶, John C Marshall ⁷, Simon Finfer ⁸, Paolo Pelosi ⁹ ¹⁰, Luca Brazzi ¹¹, Dita Aditjaningsih ¹², Jean-François Timsit ¹³, Bin Du ¹⁴, Xavier Wittebole ¹⁵, Jan Măca ¹⁶, Santhana Kannan ¹⁷, Luis A Gorordo-Delsol ¹⁸, Jan J De Waele ¹⁹, Yatin Mehta ²⁰, Marc J M Bonten ²¹, Ashish K Khanna ²² ²³, Marin Kollef ²⁴, Mariesa Human ²⁵, Derek C Angus ²⁶; EPIC III Investigators

Affiliations + expand

PMID: 32207816 PMID: PMC7093816 DOI: 10.1001/jama.2020.2717

Free PMC article

- Enfeksiyon şüphesi ya da kanıtı olan 8135 hastadan,
- en az bir mikrobiyolojik kültür alınmış (%65)
 - gram-negatif %67
 - gram-positive %37
 - fungal %16
 - Mortalite oranı %30

- 88 ülkeden 1150 merkez
15 202 YB hastası
- 15165 veri
- enfeksiyon oranı 8135 (%54)
- YB'da kazanılmış enfeksiyon oranı 1760 (22%)
- 43% Australasia
- 60% Asya ve Ortadoğu

[Evaluation of Infections in Intensive Care Units: A Multicentre Point-Prevalence Study]

[Article in Turkish]

Eşref Araç¹, Şafak Kaya², Emine Parlak³, Seyit Ali Büyüktuna⁴, Ali İrfan Baran⁵, Fethiye Akgül⁶, Mehmet Enes Gökler⁷, Selçuk Aksöz⁸, Ayşe Sağmak Tartar⁹, Recep Tekin¹⁰, Yeşim Yıldız¹¹, Emrah Günay¹

Affiliations + expand

PMID: 31709934 DOI: 10.5578/mb.68665

- Sekiz ayrı ilde, dokuz hastane, erişkin YBÜ 429 hasta
- SBİE nokta prevalansı %21.7 (n= 93)
- enfeksiyondur.
- En sık görülen SBİE türü;
 - ventilasyonla ilişkili pnömoni (%8.9)
 - kan dolaşımı enfeksiyonu (%8.2)'dur.

- Enfeksiyon sayısı 182 (%42.4)
 - %21.4'ü toplum kökenli pnömoni,
 - %18.6'sı ventilatör ilişkili pnömoni (VIP),
 - %16.3'ü toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonu,
 - %16.3'ü kan dolaşımına bağlı

Kan dolaşımı enfeksiyonu

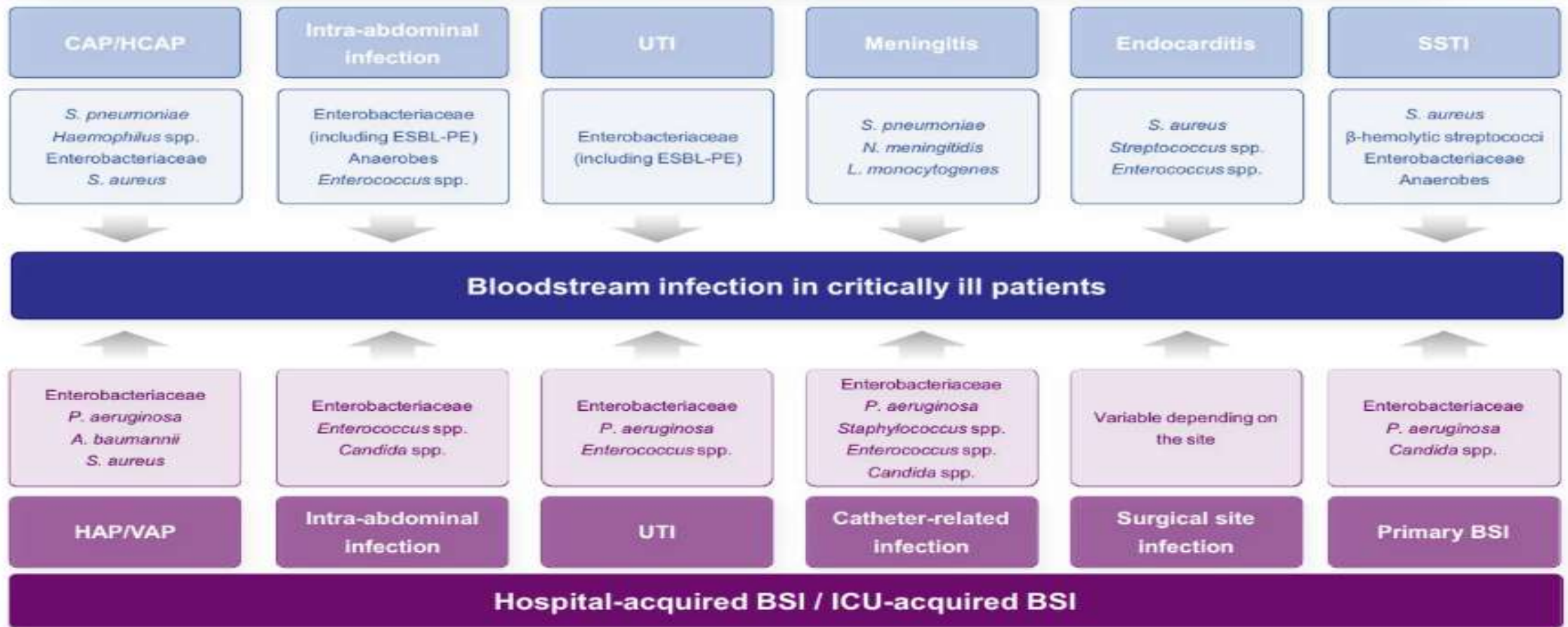
Randomize kontrollü klinik çalışma	Hasta sayısı, N	KDE, n (%)	Kayıt No/Referans
SMART (saline versus balanced crystalloids in ICU patients—secondary analysis focused on patients with sepsis)	1641	653 (39.8)	NCT02444988 Brown et al.
EUPHRATES (targeted polymyxin B hemoperfusion for patients with septic shock and elevated endotoxin level)	450	134 (29.8)	NCT01046669 Dellinger et al.
APROCCHSS (hydrocortisone plus fudrocortisone versus placebo for patients with septic shock)	1240	454 (36.6)	NCT00625209 Annane et al.
ARISE (EGDT vs usual care for patients with septic shock)	1591	601 (37.8)	NCT00975793 ANZICS.
ProCESS (protocol-based vs usual care for patients with septic shock)	1341	396 (29.5)	NCT00510835 ProCESS investigators.

CONFERENCE REPORTS AND EXPERT PANEL

Bloodstream infections in critically ill patients: an expert statement



Jean-François Timsit^{1,2*}, Etienne Ruppé^{2,3}, François Barbier⁴, Alexis Tabah⁵ and Matteo Bassetti⁶





EUROBACT-1

Multicenter Study > Intensive Care Med. 2012 Dec;38(12):1930-45.

doi: 10.1007/s00134-012-2695-9. Epub 2012 Sep 26.

Characteristics and determinants of outcome of hospital-acquired bloodstream infections in intensive care units: the EUROBACT International Cohort Study

1156 yoğun bakım hastası

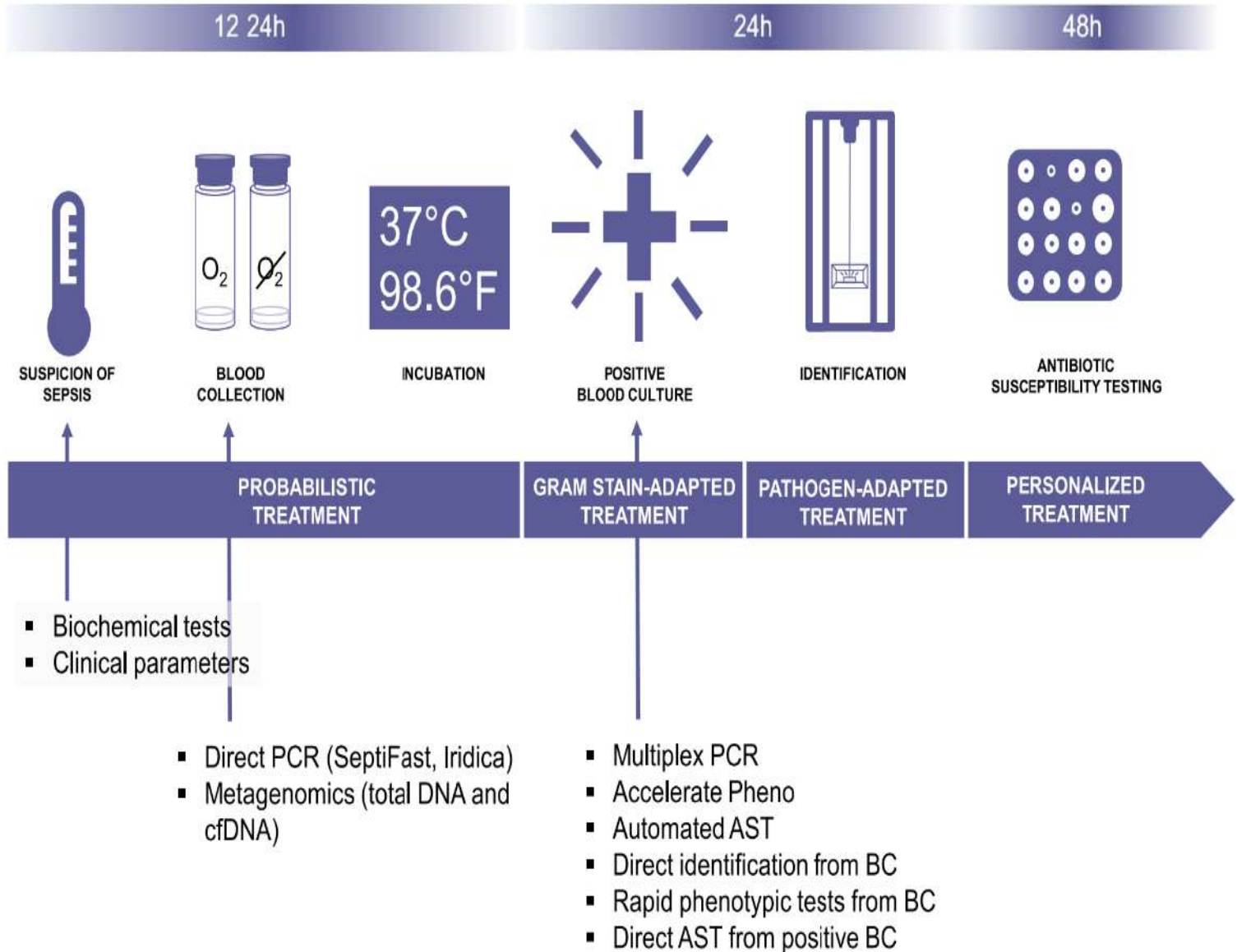
Yoğun bakımda kazanılmış KDi,

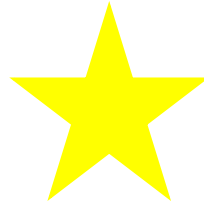
- Kateter ilişkili enfeksiyonlar (%21)
- Nazokomiyal pnömoni (%21)
- İntraabdominal enfeksiyonlar (%12)
- Kaynağı bulunamayan (%2)

- Erken, uygun antimikrobiyal tedavi, özellikle sepsis veya septik şok kriterleri olan hastalarda kritik öneme sahiptir,
- birinci basamak antimikrobiyallerin seçiminde;
 - yerel epidemiyoloji,
 - Şüpheli kaynak,
 - bakteriyel direnç,
 - önceki antimikrobiyal maruziyet
 - belgelenmiş MDR bakteriler ile kolonizasyon
 - bağışıklık durumu,

Bakteriyel tanımlama ve direnç mekanizmalarının erken tespiti için hızlı, genotipik veya fenotipik testler

Kan dolaşımı enfeksiyonunda mikrobiyolojik tanıda güncel iş akışı





Kan kültürü
altın standart yöntem

otomatize



24 saat- 5 gün

24 saat- 3 gün

- en az iki set
aerobik ve
anaerobik kan
kültürü (şişe
başına 10-20 mL

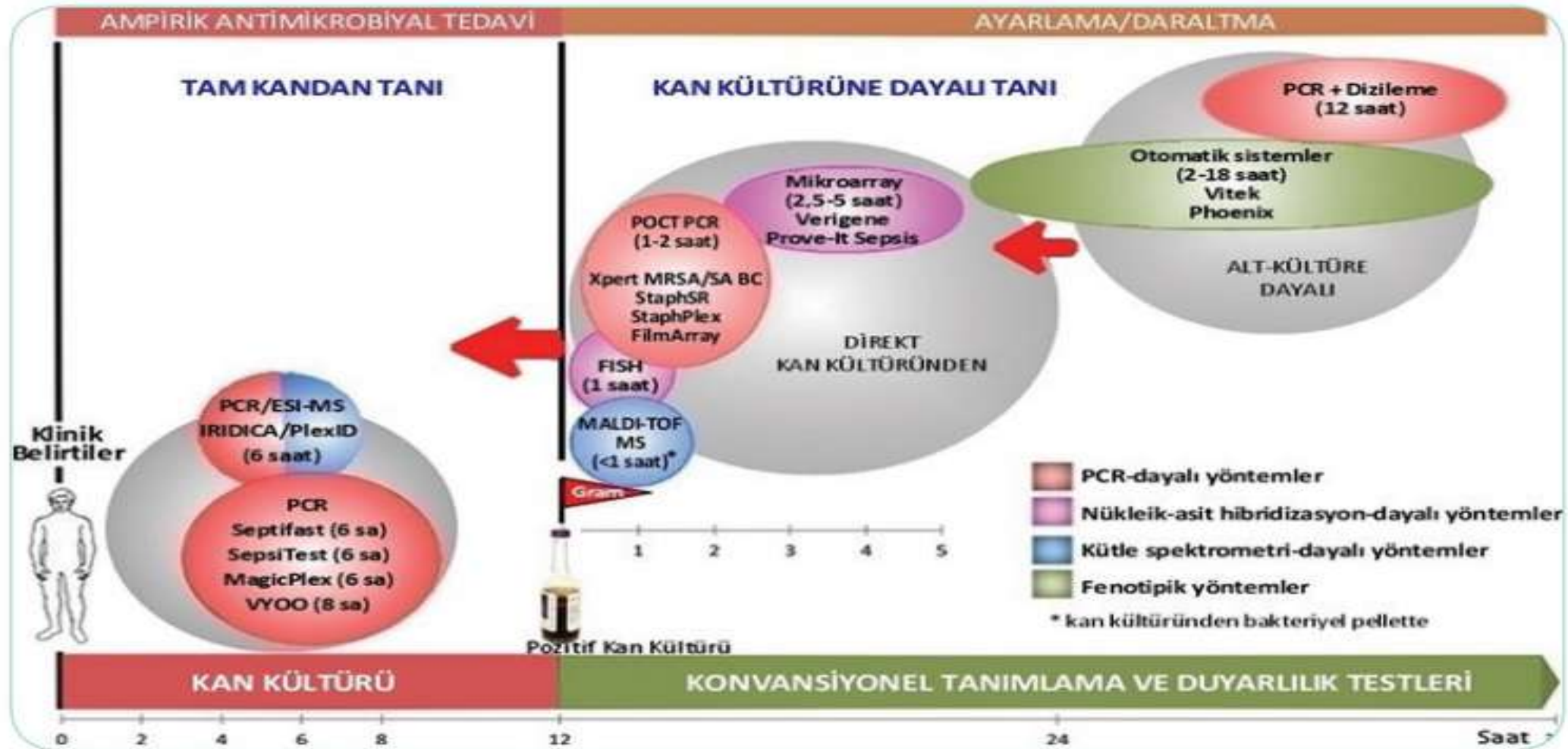
fenotipik



Dezavantajları

- Kan kültürlerinin sonuçlanması zaman alıcı ve yavaştır,
- yalnızca canlı mikroorganizmalar saptanabilir ve
- yavaş üreyen, hücre içi ve zor üreyen mikroorganizmalar için duyarlılıkları düşüktür.
- **Standart prosedürlerin doğru şekilde uygulanmasına, yeterli volümde kan örneği toplanmasına ve yüksek oranda klinik KDE şüphesine rağmen, pozitiflik %30-40 kadar düşük olabilir**
- ayrıca ampirik antimikrobiyal tedavinin başlatılmasından sonra alınan kan kültürlerinde de duyarlılık önemli ölçüde azalmaktadır.

Sepsis Mikrobiyal Tanısında Kullanılan Kültür-Bağımsız ve Kültüre Dayalı Tanı Yöntemleri



Direkt kandan çalışan moleküler temelli analizler

□ İnkübasyon yapılmadan kan numuneleri üzerinde PCR ile patojenleri ve direnç belirteçlerini doğrudan saptamak için çeşitli sistemler

- Roche LightCycler® SeptiFast,
- SeeGene MagicPlex® Sepsis Test,
- Abbott Iridica

- ✗ duyarlılık ve özgüllük ↓
- ✗ tam otomatize değil
- ✗ kısıtlı etken ve direnç geni

Test sistemi	Meta analiz çalışma sayısı	sensitivite (%)	spesifite (%)
LightCycler® SeptiFast	59	63	86
MagicPlex™ Sepsis Test	6	36	89

Sepsiste Etkenin Tanımlanması İçin Kan Örneğinde Kullanılan Moleküler Hızlı Tanı Testler, Sağlık Teknolojisi Değerlendirme Raporu, 2018.

T2MR

T2Candida®	T2Bacteria®	T2Resistance™
Sensitivity: 91.1% ¹ Specificity: 99.4% ¹	Sensitivity: 95.4% ² Specificity: 98.0% ²	FDA Breakthrough Device CE Mark/RUO 2019
<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. krusei</i> <i>C. glabrata</i>	<i>E. faecium</i> <i>S. aureus</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>E. coli</i>	<i>mecA/C</i> <i>vanA/B</i> CTXM-14/15 KPC OXA-48 Group NDM, VIM, IMP AmpC (CMY/DHA)
FDA-Cleared CE-marked 1-3 CFU/mL LoD	FDA-Cleared CE-marked 2-11 CFU/mL LoD	Available as RUO (US) FDA in process CE-marked 3-11 CFU/mL LoD

PCR + miniaturised magnetic resonance

- T2 Biosystems

- (T2 Candida-T2Bacteria)

- daha yüksek duyarlılık ve özgüllük (%) (89–91/98–100)

- daha kısa sonuç süresine (3-5 saat)

kısıtlı etken ve direnç geni!!!

Mylonakis E, et al. Clin Infect Dis. 2015
Clancy CJ, et al. J Antimicrob Chemother. 2018



T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
SAĞLIK HİZMETLERİ
GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

Sağlık Teknolojisi Değerlendirme
Daire Başkanlığı



Sepsiste Etkenin Tanımlanması İçin Kan Örneğinde Kullanılan Moleküler Hızlı Tanı Testleri Konulu

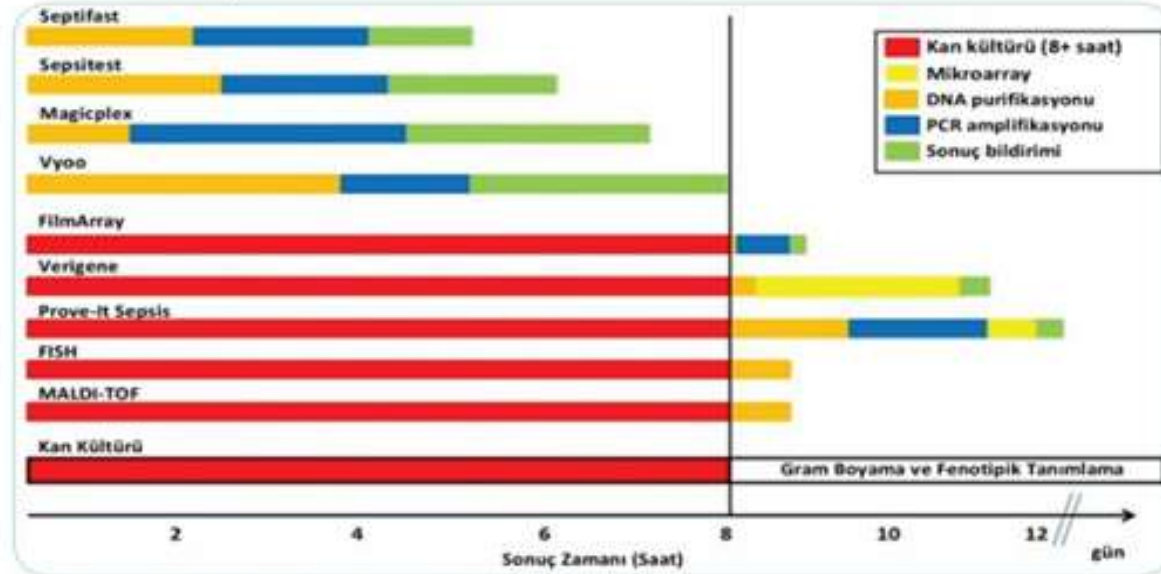
Sağlık Teknolojisi Değerlendirme Raporu

Nihal Rapor

STD Projesi PICO'su

"18 yaş üzeri hastanede yatan sepsis hastalarında, kandan alınan numuneye uygulanan moleküler hızlı tanı testleri, tek başına kan kültürüne göre mortaliteyi, antibiyotik kullanım süresini, hastanede yatış süresini kısaltır mı?"

P	Hasta	18 yaş üzerinde, hastanede yatan, sepsis şüphesi olan hasta
I	Müdahale	Kandan alınan numuneye uygulanan moleküler hızlı tanı testleri
C	Karşılaştırma	Kan kültürü
O	Sonuç	Mortalitede azalma Antibiyotik kullanım süresinde azalma Hastanede yatış süresinde kısalma



Kaynak: Eur J Microbiol Immunol (Bp). 2014; 4(1): 1-25

SONUÇLAR

- moleküler hızlı tanı testlerinin 18 yaş üzeri hastanede yatmakta olan sepsis hastalarında patojenin tespitinde %67 sensitivite ve %95'lere ulaşan spesifitede,
- Sonuç süresinin 19,5 saat kısaltılabildiği başa-baş karşılaştırmada gösterilmiştir.
- Mortalitede azalma??
- Antibiyotik kullanım süresinde azalma??
- Hastanede yatış süresinde kısalma???

Pozitif kan kültüründen çalışan moleküler temelli analizler

- ❑ BioFire FilmArray Kan Kültürü Tanımlaması ve (BioFire BCID)
- ❑ Genmark ePlex® BCID (Roche)
- ❑ Accelerate Pheno sistemi
- ❑ Verigen sistemi (Luminex)
 - ❑ Verigene, yeni β -laktam/ β -laktamaz inhibitörlerine duyarlılığı belirleyebildiğini kanıtlamıştır.
- ❑ PNA-FISH (AdvanDx)
 - ❑ bakteri ve mantarların sırasıyla 16S veya 18S rRNA'sını hedefleyen peptid nükleik asit (PNA) problrarı ile floresan in situ hibridizasyonu (FISH)
- ❑ Malditof MS

Üretici	Sistem	Yöntem	Sonuç Süre	Duyarlılık	Özgüllük	Referans
Biomerieux	BioFire BCID2	Nested PCR Microarray	1,5 saat	91–96	98–100	Blaschke AJ,2012 Southern TR, 2015 Verroken A, 2019
Luminex	Verigene® Blood culture tests	DNA microarray	2.5 saat	GP: 93–100 GN: 98	94.5–100 100	Buchan BW, 2013 Mancini N, 2014
Accelerate Diagnostics	Accelerate Pheno	FISH and microscopy	1.5 saat (tanımlama) 7 saat (ADT)	98–100 95–97.5	98–100 99–99.5	Dubourg G, 2016 Charnot-KatsikasA, Lutgring JD, Pancholi P, 2018.
BioMérieux Bruker	VitekMS Biotyper	MALDI-TOF	<1 saat (tanımlama), <1 -4 saat(ADT)	Gram-negatif uyum: 83–100 Gram-pozitif uyum: 32-89		Faron ML, et al., J Clin Microbiol, 2017.
Roche	ePlex® BCID- GP, GN, Fungal Panel	RT-PCR	1-3 saat	GP:91.2-100 GN:95.5-100	97.9-100 99-100	Karen C, 2020 DonnaM.Wolk, 2021

BioFire BCID-2

11 Gram pozitif

- *Staphylococcus spp.*,
- *Staphylococcus aureus*,
- *S. epidermidis*, *S. lugdunensis*,
- *Streptococcus spp.*, *S. agalactiae*,
- *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*,
- *E. faecalis*, *E. faecium*,
- *L. Monocytogenes*

7 mantar türü

- *C. albicans*, *C. auris*, *C. glabrata*,
- *C. krusei*, *C. parapsilosis*,
- *C. tropicalis*, *C. neoformans/gattii*

15 Gram negatif

- *A. calcoaceticus-baumannii complex*,
- *B. fragilis*, *H. influenzae*,
- *N. meningitidis*, *P. aeruginosa*,
- *S. maltophilia*,
Enterobacterales:
- *E. coli*, *E. cloacae complex*,
- *K. aerogenes*, *K. oxytoca*,
- *K. pneumoniae group*,
Proteus spp.,
- *Salmonella*, *S. Marcescens*



Direnç Genleri

mecA/C, *mecA/C* and MREJ (MRSA), van A/B, *blaKPC*, *blaIMP*, *blaOXA-48*, *blaNDM*, *blaVIM*, *mcr-1*, CTX-M

Verigene



Gram Positive Blood Culture Test (Luminex)

13 Gram positives

- *Staphylococcus spp.*,
- *Staphylococcus aureus*,
- *S. epidermidis*, *S. lugdunensis*,
- *Streptococcus spp.*, *S. agalactiae*,
- *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*,
- *S. anginosus*, *E. faecalis*, *E. faecium*,
- *Micrococcus spp.*, *Listeria spp.*

Gram Negative Blood Culture Test (Luminex)

9 Gram negatives

- *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*,
- *S. marcescens*, *Citrobacter spp.*,
- *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*,
- *Acinetobacter spp.*, *P. aeruginosa*

Direnç genleri

Gram negatif

- *mecA*, van A/B, *bla*CTX-M,
- *bla*KPC, *bla*OXA-48, *bla*IMP,
- *bla*VIM, *bla*NDM

Gram pozitif

mecA, van A/B

Roche ePlex® BCID

ePlex® BCID-GP Panel

- *Bacillus cereus* group
Bacillus subtilis group
Corynebacterium
Cutibacterium acnes
Enterococcus
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Lactobacillus
Listeria
Listeria monocytogenes
Micrococcus
Staphylococcus
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus lugdunensis
Streptococcus
Streptococcus agalactiae (GBS)
Streptococcus anginosus group
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes (GAS)
- **mecA, mecC, vanA, vanB**

ePlex® BCID-GN Panel

- *Acinetobacter baumannii*
Bacteroides fragilis
Citrobacter
Cronobacter sakazakii
Enterobacter (non-cloacae complex)
Enterobacter cloacae complex
Escherichia coli
Fusobacterium nucleatum
Fusobacterium necrophorum
Haemophilus influenzae
Klebsiella oxytoca
Klebsiella pneumoniae group
Morganella morganii
Neisseria meningitidis
Proteus
Proteus mirabilis
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella
Serratia
Serratia marcescens
Stenotrophomonas maltophilia
- **CTX-M, IMP, KPC, NDM, OXA (OXA23, OXA-48), VIM**



Fungal Etkenler

- *Candida albicans*
Candida auris
Candida dubliniensis
Candida famata
Candida glabrata
Candida guilliermondii
Candida kefyr
Candida krusei
Candida lusitaniae
Candida parapsilosis
Candida tropicalis
Cryptococcus gattii
Cryptococcus neoformans
Fusarium
Rhodotorula

Moleküler Sendromik Paneller

- Klasik
- Rutin uygulama



Basamaklar ayrı ayrı
Kalifiye personel
Biriktirilerek
4-6 saatte sonuçlanır
ekonomik

Rutin

- Hızlı
- Kritik hastalar



Her hasta için
Tüm basamaklar aynı reaksiyonda
Kullanımı kolay
Hızlı sonuç
pahalı

7/24

Multipleks PCR testler

☐ Avantajları



- Yüksek performans
- Hızlı sonuç
- optimize edilmiş bir antibiyotik rejimi başlanması için geçen süreyi azalttığı
 - spektrum daralması
 - genişlemesi
 - kontaminant tanımlandığında kesilmesi

☐ Dezavantajları



- Mortalite,
- hastanede yatış süresini etkilemediği,
- PCR problemlerinin sayısının sınırlandırılmasıdır.
- Gram-negatif bakteriler (kültür ile uyumluluk > %90)
- Gram pozitif bakteriler (~ %80 uyumluluk)



Use of the Accelerate Pheno System for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Pathogens in Positive Blood Cultures and Impact on Time to Results and Workflow

Angella Charnot-Katsikas,^a Vera Tesic,^a Nedra Love,^a Brandy Hill,^a Cindy Bethel,^a Sue Boonlayangoor,^a Kathleen G. Beavis^a

TABLE 2 Performance characteristics of the Accelerate Pheno system for organism identification (after adjudication of discrepant results)

Organism	Sensitivity ^a		Specificity ^b	
	No. detected/ no. tested	%	No. detected/ no. tested	%
Gram positives				
Coagulase-negative <i>Staphylococcus</i> spp.	52/52	100	169/172	98.3
<i>Enterococcus faecalis</i>	15/17	88.2	215/215	100
<i>Enterococcus faecium</i>	3/5	60	227/227	100
<i>Staphylococcus aureus</i>	18/19	94.7	200/202	99
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	0/0	NA ^c	228/228	100
<i>Streptococcus</i> spp.	21/21	100	205/210	97.6
Total	109/114	95.6	1,244/1,254	99.1
Gram negatives				
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3/3	100	229/229	100
<i>Citrobacter</i> spp.	2/2	100	230/230	100
<i>Enterobacter</i> spp.	11/13	84.6	215/216	99.5
<i>Escherichia coli</i>	30/31	96.8	201/201	100
<i>Klebsiella</i> spp.	20/21	95.2	211/211	100
<i>Proteus</i> spp.	3/3	100	229/229	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9/9	100	223/223	100
<i>Serratia marcescens</i>	3/3	100	229/229	100
Total	81/85	95.3	1,767/1,768	99.9
Yeast				
<i>Candida albicans</i>	2/2	100	229/229	100
<i>Candida glabrata</i>	3/3	100	224/229	97.8
Total	5/5	100	453/458	98.9

**Accelerate Pheno sistemi,
hızlı tür tanımlama (ID)
antimikrobiyal duyarlılık testi (ADT) (MIC)
«morfokinetik hücresel analiz ile otomatik
floresan in situ hibridizasyon teknolojisi»**

**241 m.o.,
sensitivity 95.6%
specificity 99.5%,
ADT,
Temel uyum % 95.1
kategorik uyum % 95.5**

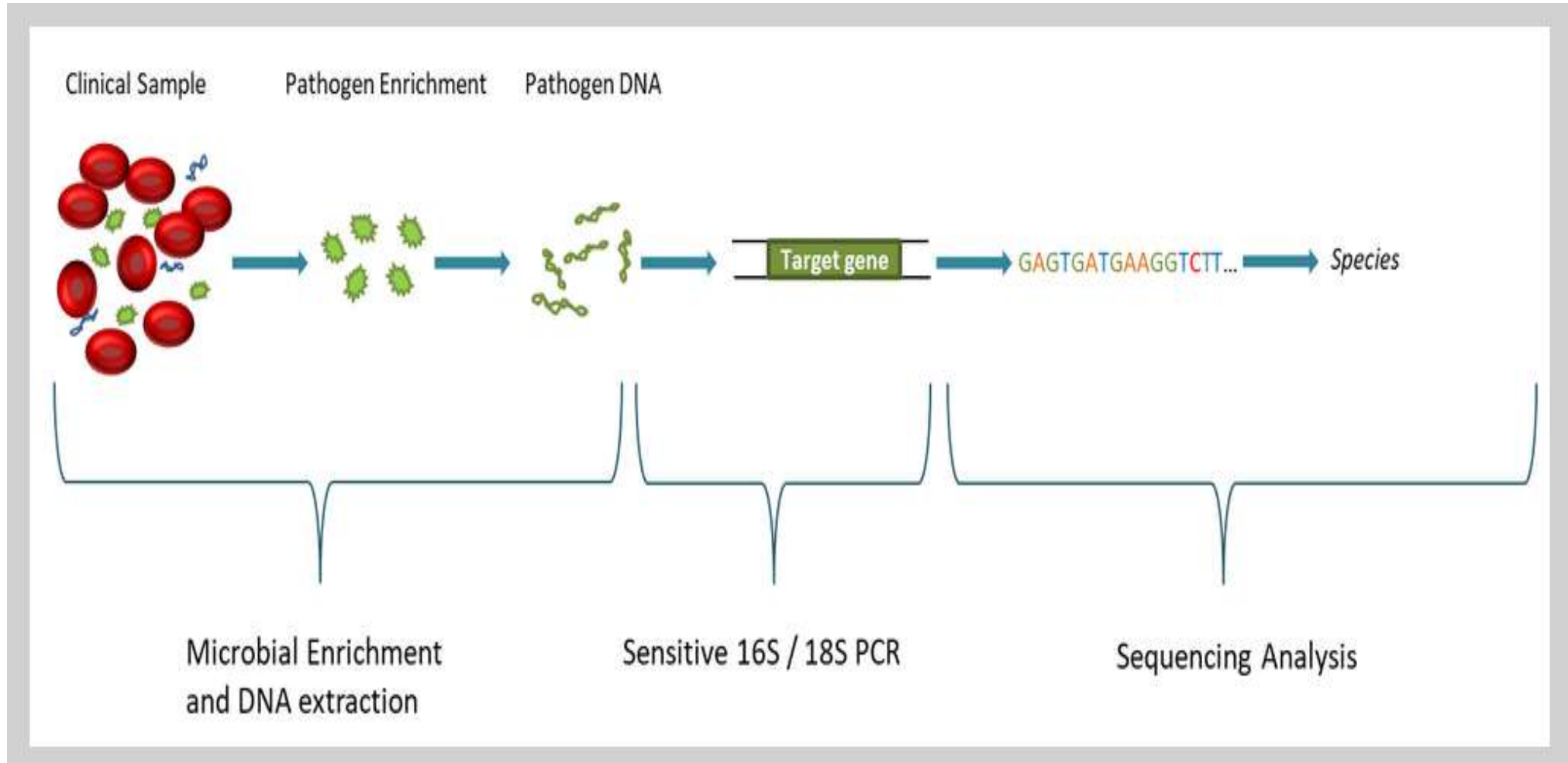
Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi [matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)]

- bakterilerin tanımlanması açısından enfeksiyon hastalıkları kliniklerinde ve mikrobiyoloji laboratuvarlarında büyük bir çığır açmıştır
- MALDI-TOF MS, kan dolaşım enfeksiyonları açısından pozitif sinyal veren kan kültürü şişesinden yapılan subkültürlerden elde edilen gram negatif bakterilerde %90, gram pozitif bakterilerde %60-80 oranında güvenilir tanımlama yapabilmektedir

Yeni nesil dizileme ve metagenomik analizler

- **Yeni nesil dizileme**
- **Hedeflenmemiş YND (Untargeted NGS)**, masif paralel dizileme yoluyla tüm bakteri genomlarının okunmasını sağlar
- **Metagenomik analizler**
 - 16S metagenomik, bakteriyel 16S rRNA geninin evrensel primerleri yoluyla amplifikasyona, bakteriyel tanımlama ve alt tip tanımlamasını sağlayan ampikon dizilemesine dayanır.
 - 18S rRNA (fungal tanımlama)
 - Klinik metagenomik (cMg),
 - (cfDNA) hücre dışındaki nükleik asitlerin

Molzym, geniş kapsamlı 16S ve 18S rRNA gen PCR'ı ile bakteri ve mantarların sekanslama analizini kullanan SepsisTest™-UMD CE IVD sistemini geliştirmiştir.



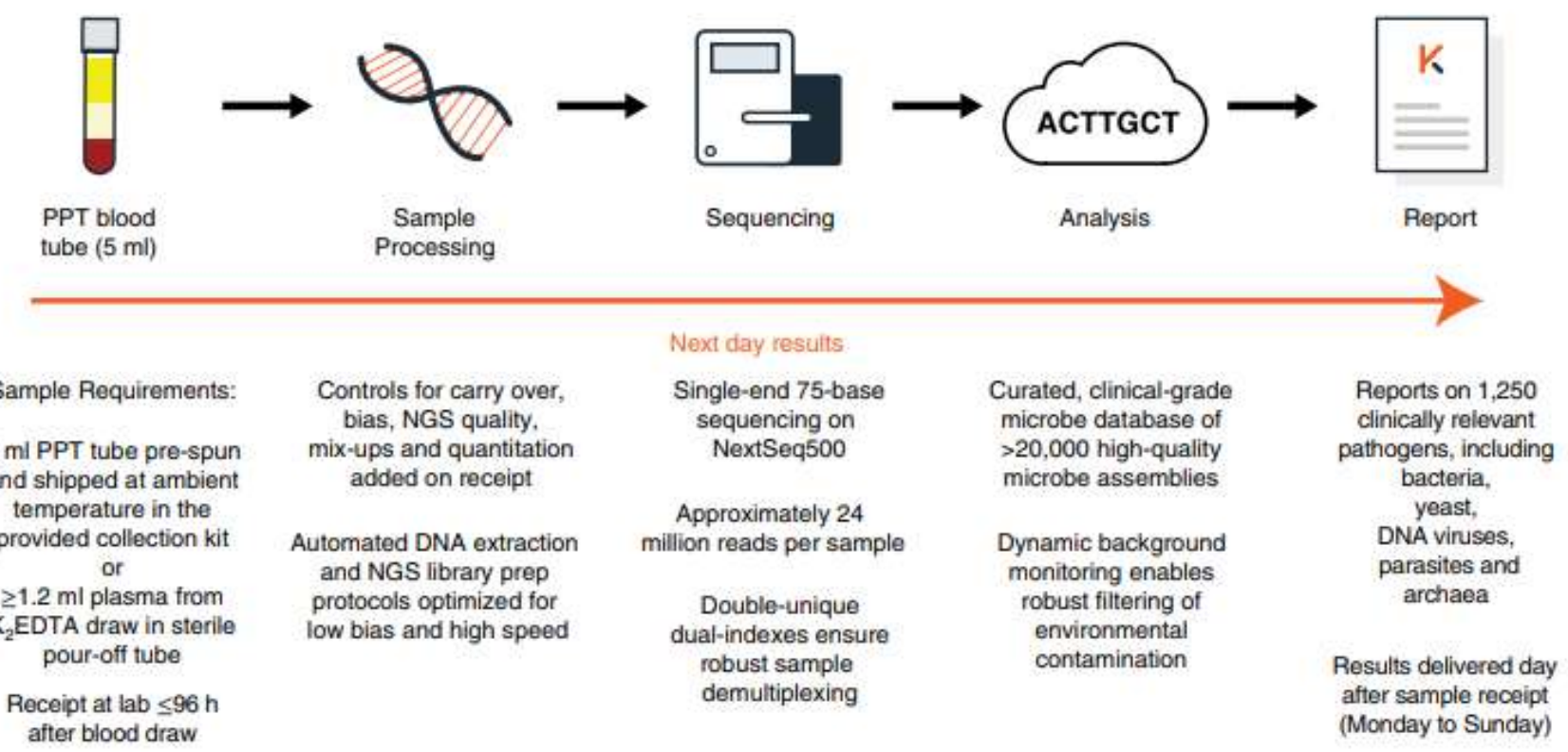
Analytical and clinical validation of a microbial cell-free DNA sequencing test for infectious disease

- Üç yüz kırk sekiz hastayı içeren yeni bir çalışmada,
- cfDNA dizilimi için
 - kan kültürü ile pozitif uyum oranı %93.7
 - özgüllük %63
- Gerçekten de metagenomik dizileme, konvansiyonel yöntemlerle negatif bulunan **166 numunenin 62'sinde** kültürde tanımlanamayan bakterileri saptadı,
- Dikkat çekici bir şekilde, cfDNA dizileme sonuçlarının %85'i, örneğin gelişinden sonraki gün içinde sonuçlandı.

Karius, Inc., Redwood City, CA, USA. 2 Department of Emergency Medicine, Stanford University, Palo Alto, CA, USA. Timothy A., et al.

Karius CLIA/CAP laboratuvarı Microbial cell-free DNA sequencing iş akışı

ARTICLES NATURE MICROBIOLOGY



Sistem	Yöntem	Sonuç Süre	İçerik	Duyarlılık	Özgüllük	Referans
SepsiTest (Molzym)	Broad range PCR + sequencing	8-18 saat	Over 345 bacteria and 8 fungi	48	86	Stevenson M, Health Technol Assess., 2016
iDTECT Dx Blood (PathoQuest)	Untargeted NGS	60	Over 1200 pathogens (bacteria and viruses)	(Negative predictive value: 98.4%)		Parize P, Clin Microbiol Infect., 2017
Karius NGS plasma Test (Karius)	Untargeted NGS	55	Over 1200 pathogens (bacteria, fungi, viruses and parasites)	93	63	Blauwkamp TA, Nat Microbiol., 2019

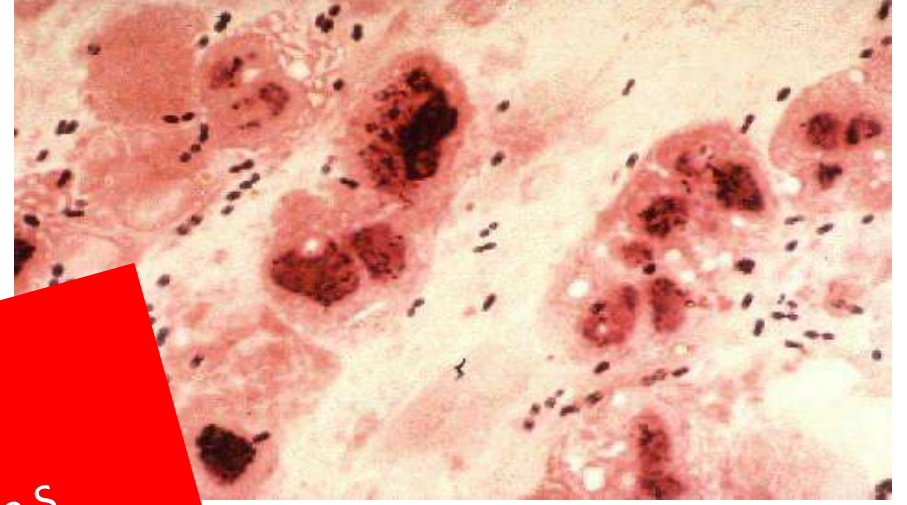
Solunum yolu enfeksiyonları

- ABD ve Avrupa'daki tüm hastane kaynaklı enfeksiyonların yaklaşık %25'inden ve hastanelerde reçete edilen antibiyotiklerin %50'den fazlasından sorumludur,
- Ventilasyonla ilişkili pnömonia (VİP) ve YBÜ-hastanede edinilmiş pnömoni (HAP) önemli bir mortalite riski ile ilişkilidir,
- Etiyolojik tanı, bu hastalığın morbidite ve mortalitesi üzerindeki etkisi nedeniyle mikrobiyolojik bir acil durumdur.

SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONLARI KLASİK TANISI

- **Balgam**

- Direkt mikroskopi (gram, ARB)
- Kültür (bakteri, mantar, mikobakteri)



Uygun balgam örneği

Her alanda /

≤10 yaş

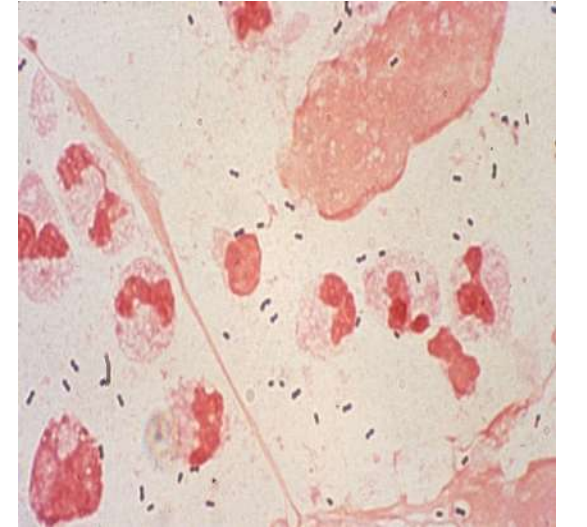
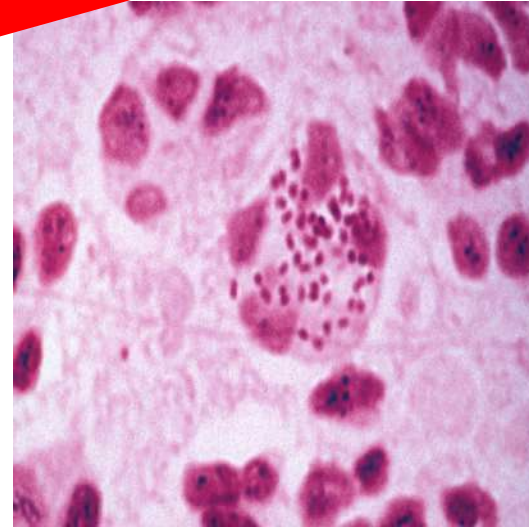
Nötrofil

Mukus iplikçikleri

Bronş epiteli

Balgam kültürü
Duyarlılık % 40-60

Klinik Mikrobiyoloji yöntemleri el kitabı, Lynne S. Garcia ASM Press



ANTİJEN TESTLERİ

- Influenza virus A/B, RSV, Adenovirus antijeni
- *Streptococcus pneumoniae* antijeni
- Legionella antijeni
- A Grubu beta hemolitik Streptokok antijeni
- Galaktomannan antijeni
- Beta DGlukan

Duyarlılık % 70-80

A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology^a

J. Michael Miller,¹ Matthew J. Binnicker,² Sheldon Campbell,³ Karen C. Carroll,⁴ Kimberle C. Chapin,⁵ Peter H. Gilligan,⁶ Mark D. Gonzalez,⁷ Robert C. Jerris,⁷ Sue C. Kehl,⁸ Robin Patel,² Bobbi S. Pritt,² Sandra S. Richter,⁹ Barbara Robinson-Dunn,¹⁰ Joseph D. Schwartzman,¹¹ James W. Snyder,¹² Sam Telford III,¹³ Elitza S. Theel,² Richard B. Thomson Jr.,¹⁴ Melvin P. Weinstein,¹⁵ and Joseph D. Yao²

NAAT'ler, solunum virüsü tespiti için hızlı antijen testlerinin ve kültürünün yerini büyük ölçüde almıştır.

Sendromik alt solunum yolu panelinin;

- toplum kökenli pnömoni (TKP),
- erken hastane kökenli pnömoni (HKP) hastalarında,
 - mikrobiyal etkenlerin belirlenmesi,
 - hedefe yönelik antimikrobiyal tedavi ,
 - enfeksiyon kontrol yönetimi üzerine.

Filmarray Pnömoni paneli (Biofire, bioMerieux); yaklaşık 1,5 saatte 15 bakteri (kantitatif olarak 10^4 ila 10^7), üç atipik bakteri, yedi direnç geni ve sekiz virüsü saptayabilmektedir

BioFire® FilmArray®

Pneumonia Panel plus

BACTERIA

Semi-Quantitative Bacteria

Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex
Enterobacter cloacae complex
Escherichia coli
Haemophilus influenzae
Klebsiella aerogenes
Klebsiella oxytoca
Klebsiella pneumoniae group
Moraxella catarrhalis
Proteus spp.
Pseudomonas aeruginosa
Serratia marcescens
Staphylococcus aureus
Streptococcus agalactiae
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes

ATYPICAL BACTERIA

Qualitative Bacteria

Chlamydia pneumoniae
Legionella pneumophila
Mycoplasma pneumoniae

VIRUSES

Adenovirus
Coronavirus
Human Metapneumovirus
Human Rhinovirus/Enterovirus
Influenza A
Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) *
Influenza B
Parainfluenza Virus
Respiratory Syncytial Virus

ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES

Carbapenemases

IMP
KPC
NDM
OXA-48-like
VIM

ESBL

CTX-M

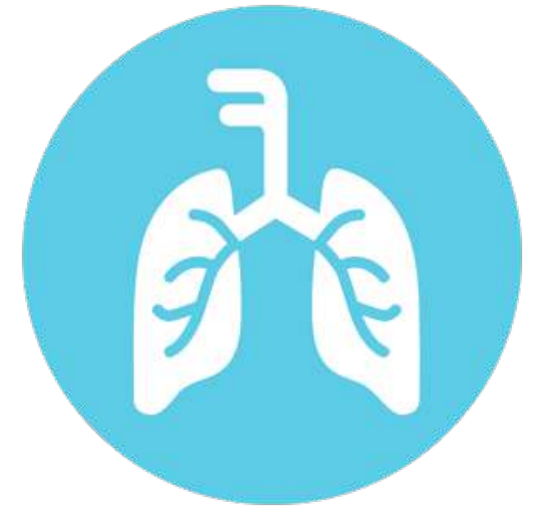
Methicillin Resistance

mecA/C and MREJ (MRSA)

Sample type: Sputum, Endotracheal aspirate, Bronchoalveolar lavage, and mini-BAL

- **MERS-CoV Available on the BioFire Pneumonia Panel plus only**

The BioFire Pneumonia Panel plus is only available outside the United States



Unyvero HPN (Curetis, Unyvero TM) 21 bakteri ve bir parazit için semikantitatif (+ ila ++) ve 15 direnç geni için yaklaşık 5 saatte sonuç üretmektedir.



Hospitalized
Pneumonia
(HPN) Cartridge



Sample Types

Sputum, bronchoalveolar lavage,
tracheal aspirates

Gram-positive bacteria

Staphylococcus aureus
Streptococcus pneumoniae

Enterobacteriaceae

Citrobacter freundii
Escherichia coli
Enterobacter cloacae complex
Klebsiella aerogenes (*E. aerogenes*)
Proteus spp.
Klebsiella pneumoniae
Klebsiella oxytoca
Klebsiella variicola
Serratia marcescens
Morganella morganii

Non-fermenting bacteria

Moraxella catarrhalis
Pseudomonas aeruginosa
Acinetobacter baumannii complex
Stenotrophomonas maltophilia
Legionella pneumophila

Others/Fungi

Pneumocystis jirovecii
Haemophilus influenzae
Mycoplasma pneumoniae
Chlamydia pneumoniae

Resistance Gene

43*

Macrolide/ Lincosamide	<i>ermB</i>
Oxacillin	<i>mecA</i> <i>mecC</i>
Penicillin	<i>tem</i> <i>shv</i>
3rd generation Cephalosporins	<i>ctx-M</i>
Carbapenem	<i>imp</i>
	<i>kpc</i>
	<i>ndm</i>
	<i>oxa-23</i>
	<i>oxa-24/40</i> <i>oxa-48</i> <i>oxa-58</i> <i>vim</i>
Sulfonamide	<i>su1</i>
Fluoroquinolone	<i>gyrA83</i> <i>gyrA87</i>

Unyvero HPN paneli

- a. 98 YBÜ hastasından alınan 175 donmuş bronkoalveoler lavaj (BAL) örneğinde kültürle pozitif uyum oranı %96,5 ve negatif uyum oranı %99,6
- b. Ancak kültür panelde yer almayan 35 patojen (maya, nocardia, mikobakteri vb. dahil) daha saptadı.
- c. Performanslar, VIP veya ventile HKP'li hastaların 95 klinik örneğinde biraz daha düşüktü.

^{a,b}Collins ME, et al. J Clin Microbiol 2020.

^cPeiffer-Smadja N, et al. Crit Care 2020.

Filmarray Pnömoni paneli

- a. 200 acil servis ve yoğun bakım hastasından donmuş sy örnekleri
- b. Bakteri tespiti için kültür ile pozitif ve negatif yüzde uyum oranı sırasıyla %98.4 ve %96.8,
- c. virüsler için konvansiyonel PCR ile %82.6 ve %99.5
- d. 51 yetişkin hastadan elde edilen 59 endotrakeal aspirat ve BAL üzerinde prospektif bir değerlendirme,
- e. sırasıyla bakteriyel tespit için pozitif ve negatif uyum oranları sırası ile %90've %97.4

^{a,b,c}Webber DM, et al. J Clin Microbiol 2020.

^{d,e}Lee SH, Ruan SY, Pan SC, et al. J Microbiol Immunol Infect 2019.



Molecular diagnostic methods for pneumonia: how can they be applied in practice?

Solen Kerneis^{a,b,}, Benoit Visseaux^{a,c,*}, Laurence Armand-Lefevre^{a,d}, and Jean-François Timsit^{a,e}*

Sendromik testler,

- atakların %39-40'ında erken dönemde uygun deeskalasyona ve
- çeşitli şiddetli lejyonelloz vakalarının beklenmedik teşhisi de dahil olmak üzere %21-22'de eskalasyonu sağladığı
- kültür, numunelerin %30'unda panel dışı bir mikroorganizma izole etmiştir.

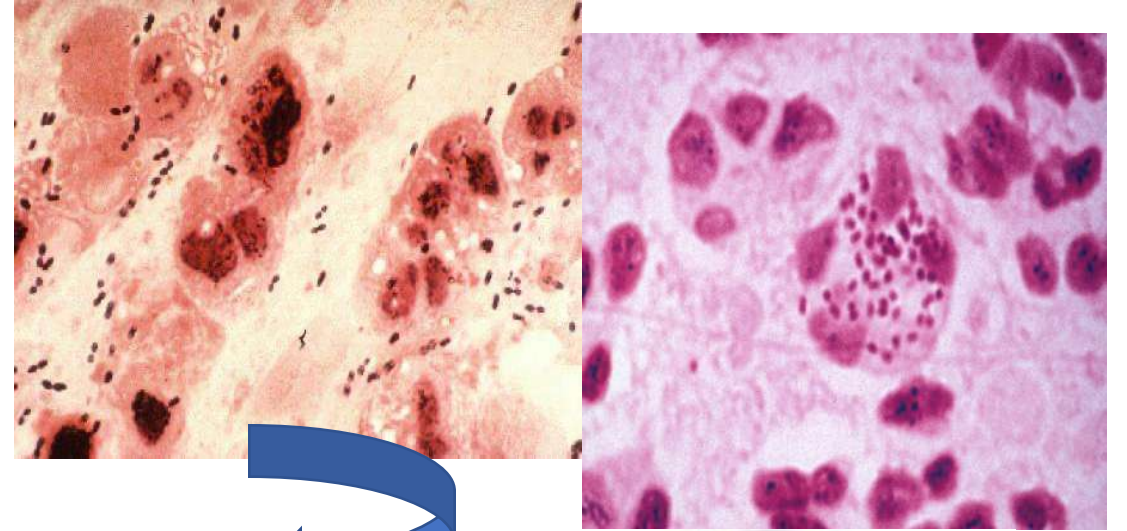
Sendromik alt solunum yolu panelinin antimikrobiyal tedavi yönetimi ve enfeksiyon kontrolü üzerine etkisinin değerlendirildiği ön çalışma sonuçları

Rabia Can Sarınoğlu¹, Elif Tükenmez Tigen², Hüseyin Bilgin², Volkan Korten², Güner Söyletir¹
Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi
5. Ulusal Klimud Kongresi

Ekim 2018 ve Eylül 2019 ,
>18 yaş, TKP, erken HKP tanılı yatan

Kaliteli balgam örneği

- Gram boyama/x100 büyütme/heralanda
- ≤ 10 yassı epitel ve ≥ 25 PNL
- Kültür (bakteri)
- FA LRTI Panel (IUO)
(Biomerieux Diagnostics, ABD)



BULGULAR

Bakteriler	n (%)	Viruslar	n (%)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10 (21.7)	Human Rhino/Entero virus	12 (63.1)
<i>Haemophilus influenzae</i>	9 (19.6)	Influenza A	3 (15.8)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 (15.2)	Parainfluenza virus	1 (5.3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 (15.2)	Respiratory syncytial virus	1 (5.3)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6 (10.9)	Human Adenovirus	1 (5.3)
<i>Escherichia coli</i>	4 (6.5)	Influenza B	1 (5.3)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 (6.5)		
<i>Acinetobacter calcoaceticus / baumannii complex</i>	2 (4.3)		
Toplam	46 (100)	Toplam	19 (100)

12 hastada çoklu (2-4) bakteri

2 hastada Rhino/Entero virus ve Influenza A

Çalışmaya alınan hastaların özellikleri (n=40)

n(%)

Solunum paneli sonucu ile antimikrobiyal değişiklik

20 (50)

Antimikrobiyal değişiklik nedeni

Hedefe yönelik de-eskalasyon

9 (45)

Eskalasyon

7 (35)

Hedefe yönelik antiviral tedavi

3 (15)

Tüm antimikrobiyallerin kesilmesi

1 (5)

Enfeksiyon kontrol önerisi yapılan hastalar

21 (52.2)

Damlacık izolasyonu

13 (62)

Temas izolasyonu

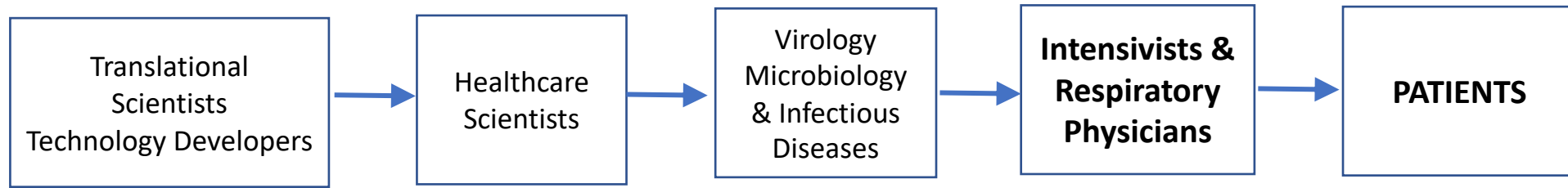
8 (38)

SONUÇLAR

Sendromik alt solunum yolu panelinin TKP ve erken HKP tanısı alan hastalarda;

- yüksek oranda de-eskalasyonu sağladığı,
- aynı zamanda enfeksiyon kontrol önlemlerinin hızlı uygulanmasında katkı sağlayabileceği,
- panelde çoklu bakteri pozitifliği saptanan hastalarda etkenin doğru tanımlanması ve semikantitasyon değerlerinin irdelenmesi açısından daha fazla sayıda hastayı içeren çalışmalara ihtiyaç vardır...

Clinical benefits of a same-day respiratory metagenomics service for the intensive care unit



KING'S
College
LONDON

University of London

synnovis
A SYNLAB pathology partnership

Guy's and St Thomas' **NHS**
NHS Foundation Trust

Universities

Themis Charalampous (CIDR lead scientist)
Mark Tan (PhD student)
Luke Snell (MD/PhD student)
Justin O'Grady (Quadram & Oxford Nanopore)

CIDR Centre for Clinical Infection
& Diagnostics Research

Microbiology laboratory

Penny Cliff (Lead Scientist)
Adela Medina (Clinical Scientist)

Jonathan Edgeworth MD PhD

Consultant Microbiologist
Honorary Professor of Clinical Infectious Diseases
Part-time position, Oxford Nanopore Technologies, Medical Affairs

Intensive Care Unit

Nicholas Barrett
Chris Meadows
Richard Paul
Duncan Wyncoll

Microbiology/virology/infectious diseases

Rahul Batra (ID/internal medicine)
Gaia Nebbia (Consultant Virologist)
Chris Alder (Bioinformatician)
Amita Patel (Laboratory Manager)
Tom Williams (MD sequencing Fellow)
Noor Al-Yaakoubi (Research Assistant)
Gul Humayun (Research Assistant)

Routine nanopore pathogen sequencing is a realistic proposition in the virology and microbiology laboratories

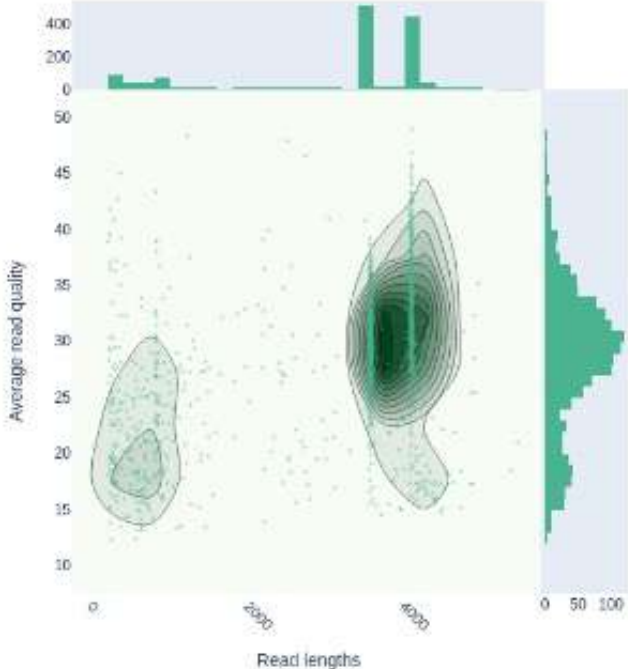


Nanopore reader

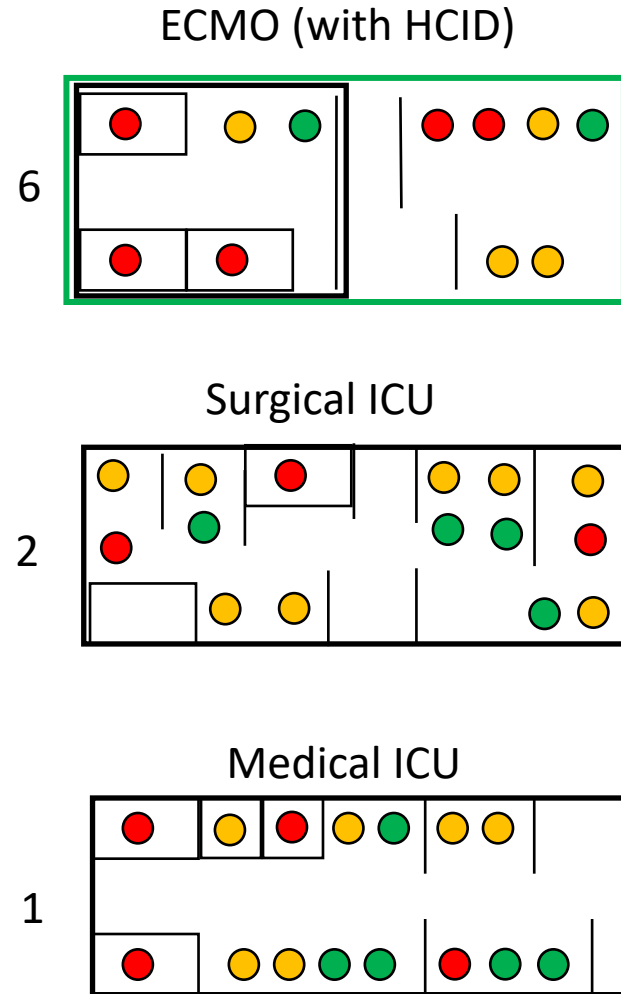
← **Thread**

 **Luke Blagdon Snell**
@lukebsnell

Have to see it to believe it.
[@nanopore](#) R10 flow cells,
v14 kit chemistry, SUP
basecalling, duplex reads.
Median quality score= 30.
Significant number Q>40.
Seq game changed. 🤩



Currently provide a range of traditional and molecular tests for the intensive care unit



COMMUNITY LRTI

S A M E D A Y

2 – 4

5 – 7 D A Y S

PCR panels
18 viruses
5 atypical
bacteria

Resp.
Culture

Resp
16S

Serum BDG
Serum & BAL GM

Legionella &
pneumococcal
urinary antigen

ICU-ACQUIRED LRTI

2 – 4

5 – 7 D A Y S

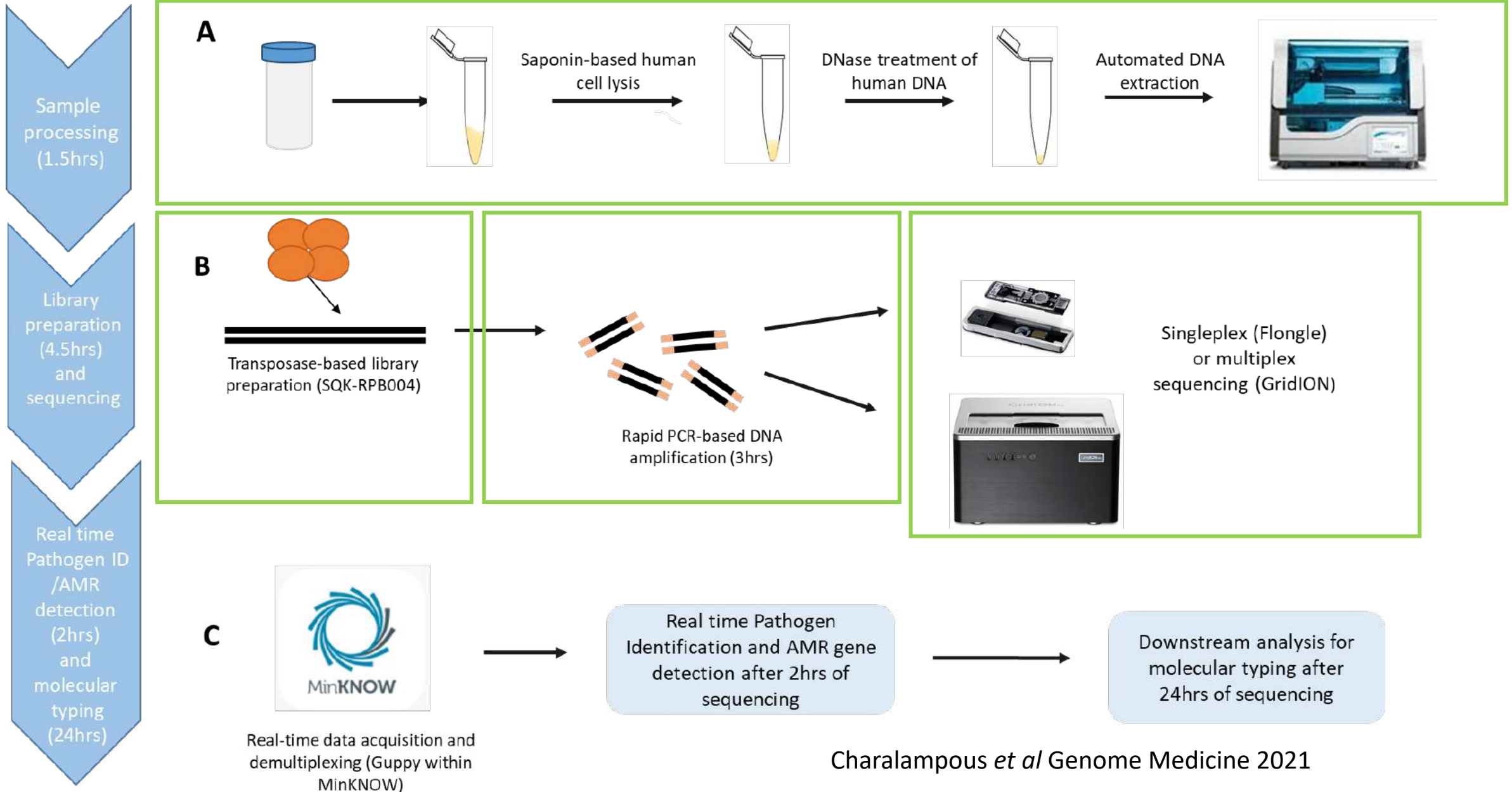
Resp.
Culture

Serum BDG
Serum & BAL GM

BDG = β d-glucan

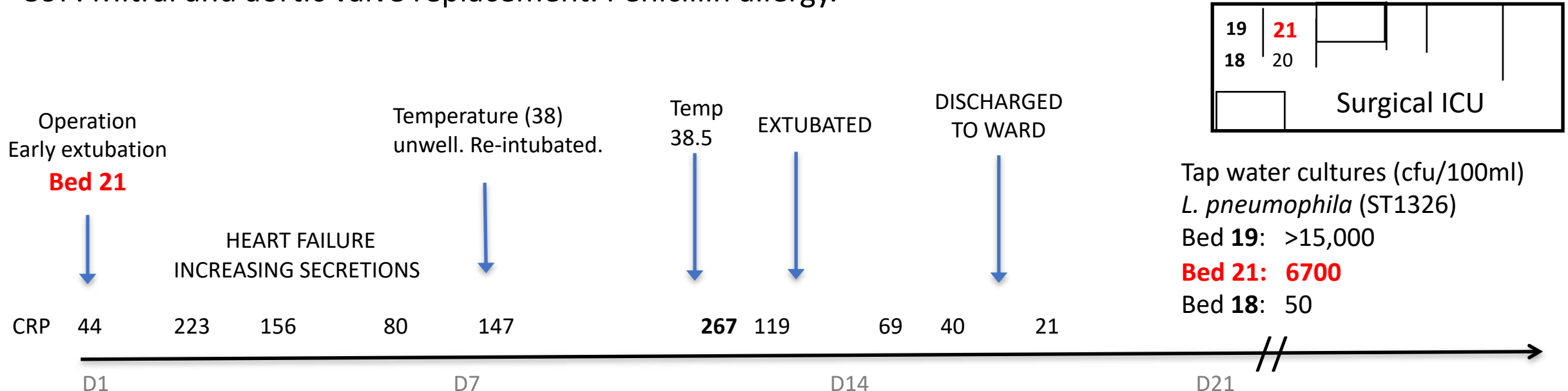
GM = Galactomannan

Metagenomic workflow for bacteria and fungi (and DNA viruses)

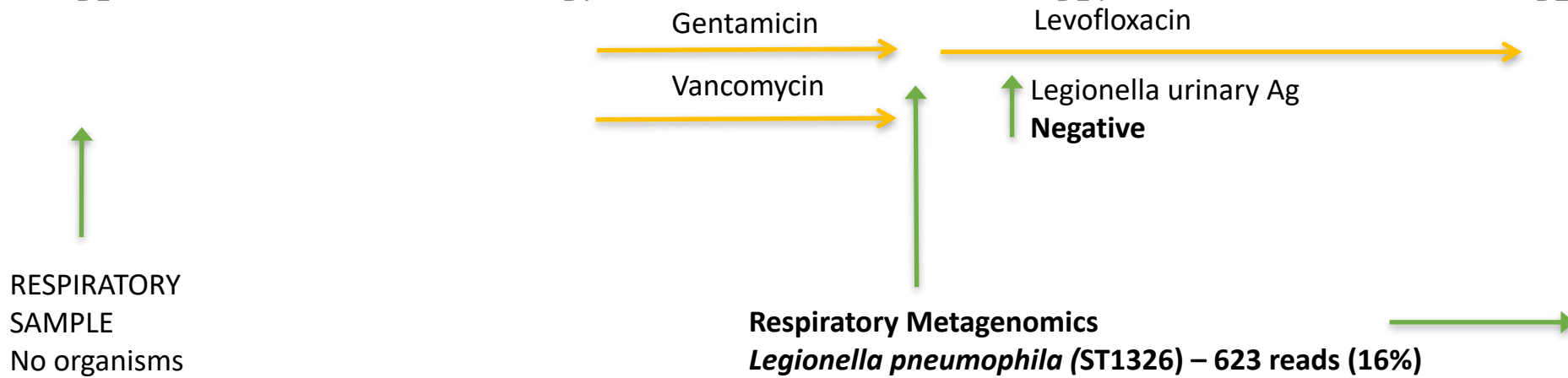


Case study 1: Unexpected organism with patient, infection control and public health impact

59F: Mitral and aortic valve replacement. Penicillin allergy.



Tap water cultures (cfu/100ml)
L. pneumophila (ST1326)
Bed 19: >15,000
Bed 21: 6700
Bed 18: 50



	Resp. CMg	Ref Lab
flaA	3	3
PilE	10	10
asd	-	1
Mip	28	28
mompS	-	14
proA	9	9
neuA	207	207

Case study 2: Severe influenza with secondary bacterial infection

54M: No previous illness. 3 days breathless, cough, chest pain. Intubated on arrival. Referred for ECMO (day 1)

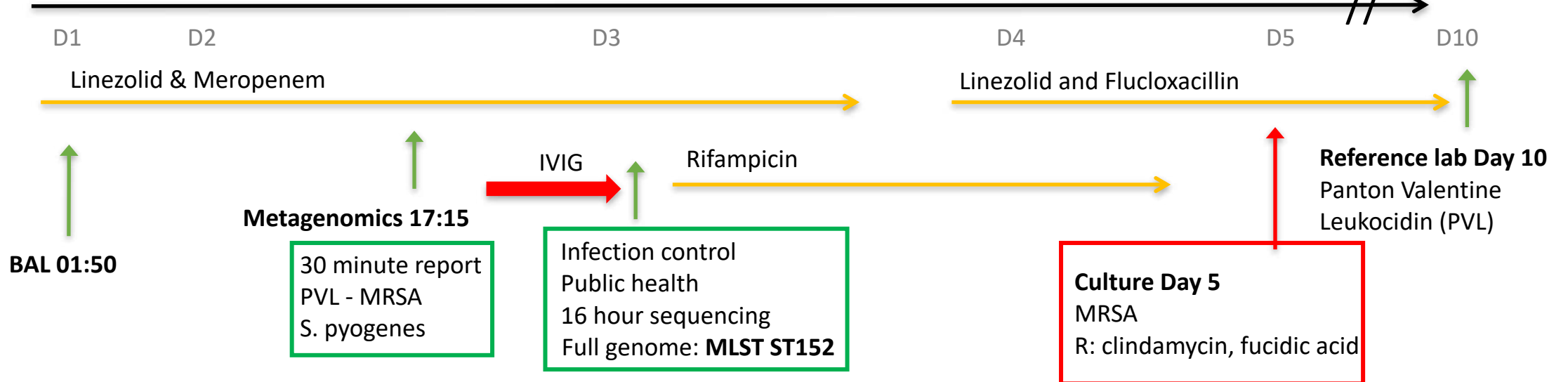
AMR & virulence genes	Reads
<i>ErmC</i>	2654
<i>mecA</i>	22
<i>FusC</i>	22
<i>Luk F/S</i>	3

Organism	Counts	Percentage
Staphylococcus aureus	49481	87.16
Staphylococcus hominis		3.94
Staphylococcus cohnii		3.45
Staphylococcus epidermidis		2.51
Streptococcus pyogenes		0.77
Staphylococcus haemolyticus	327	0.58
Staphylococcus warneri	180	0.32
Haemophilus parainfluenzae	166	0.29
Jonesia denitrificans	107	0.19

S. aureus
Okuma sayısı: 49481
Yüzdesi: 87.16

CRP 271
PCT >100

>100



Case study 3: Influenza A with secondary invasive aspergillosis

30F: Two weeks cough with green/rusty sputum. Admitted to ICU. Influenza A with life threatening asthma
 Day 5 – Intubated but failed conventional ventilation. No positive cultures. Referred for VV ECMO

Centrifuge Hits - Above Threshold

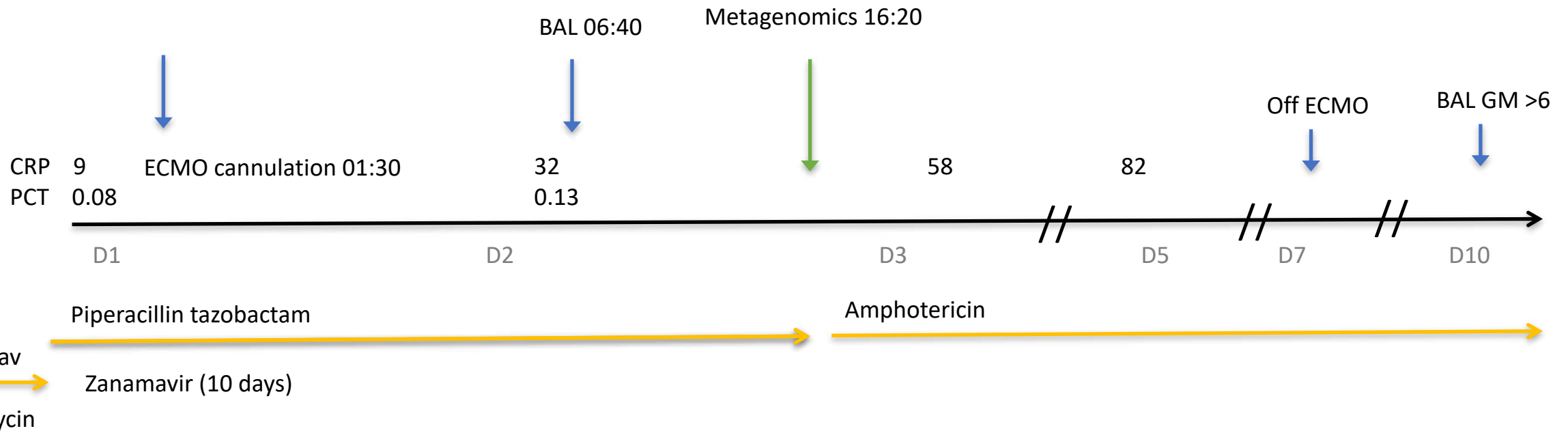
Organism	Percentage
Aspergillus fumigatus	91.83
Jonesia denitrificans	8.02
Aspergillus clavatus	0.01

Aspergillus fumigatus
 Okuma sayısı: 9852
 Yüzde: 91.83

Coverage	% Covered	Bases (Mb)
10x	82.02	24.10
15x	68.78	20.21
20x	51.45	15.12

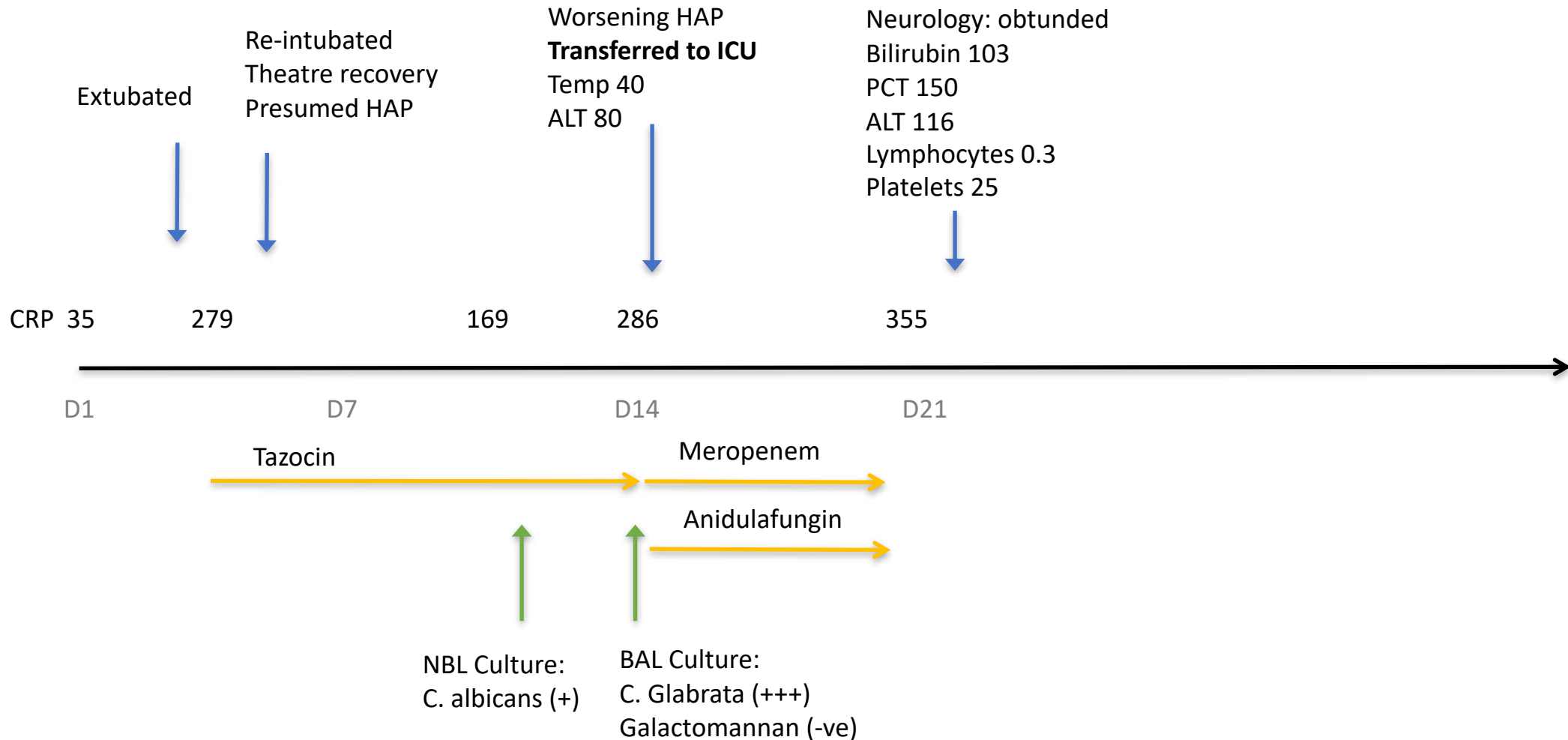
Two mutations: Cyp51A - R279T and L272I
 (Not associated with azole resistance)

<https://sbi.hki-jena.de/FunResDb/>

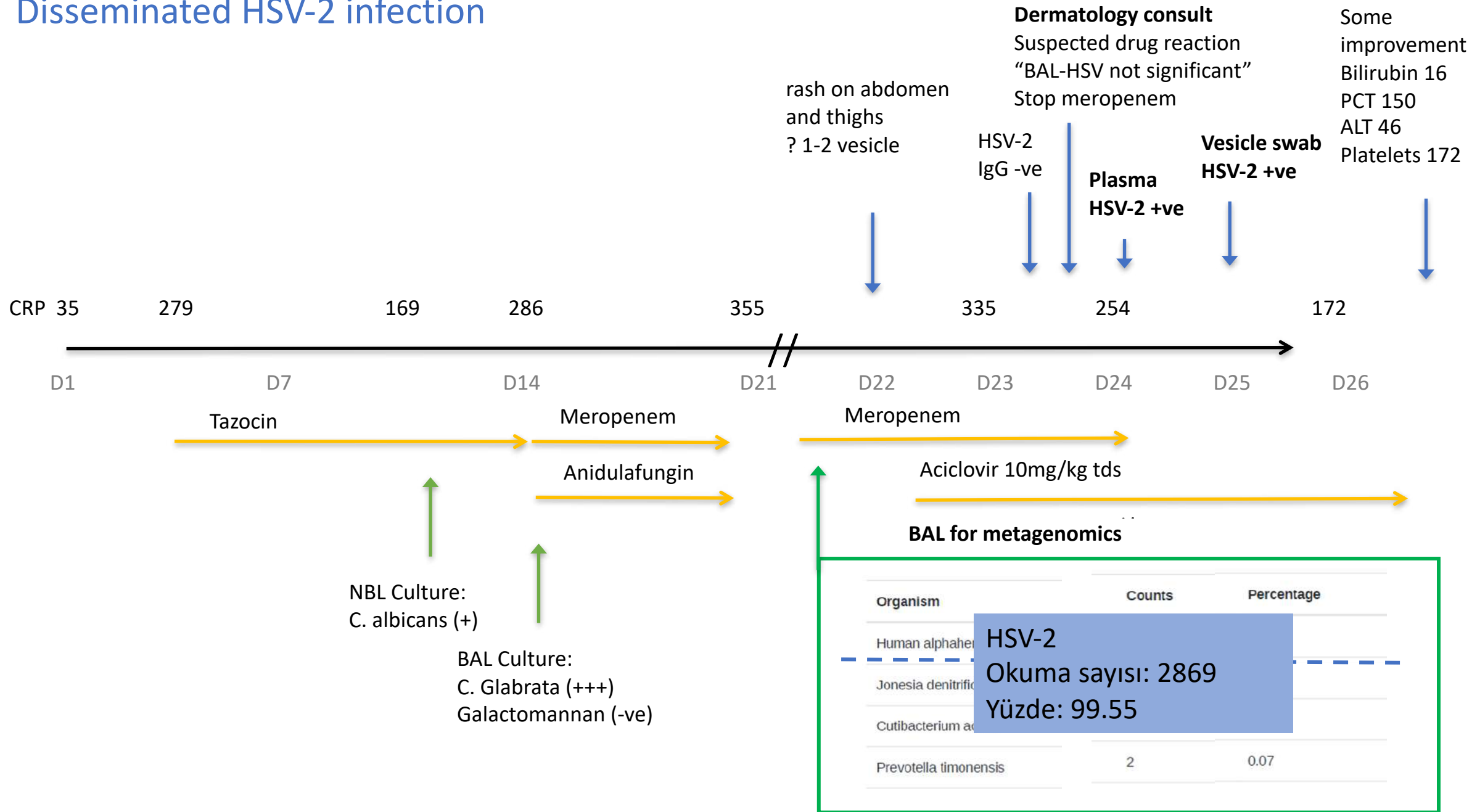


Case study 4: Worsening ventilator acquired pneumonia with no obvious cause

68M: Complex elective thoraco-abdominal aorta replacement. Cardiac arrest in theatre. Massive transfusion
No history of immunosuppression



Disseminated HSV-2 infection

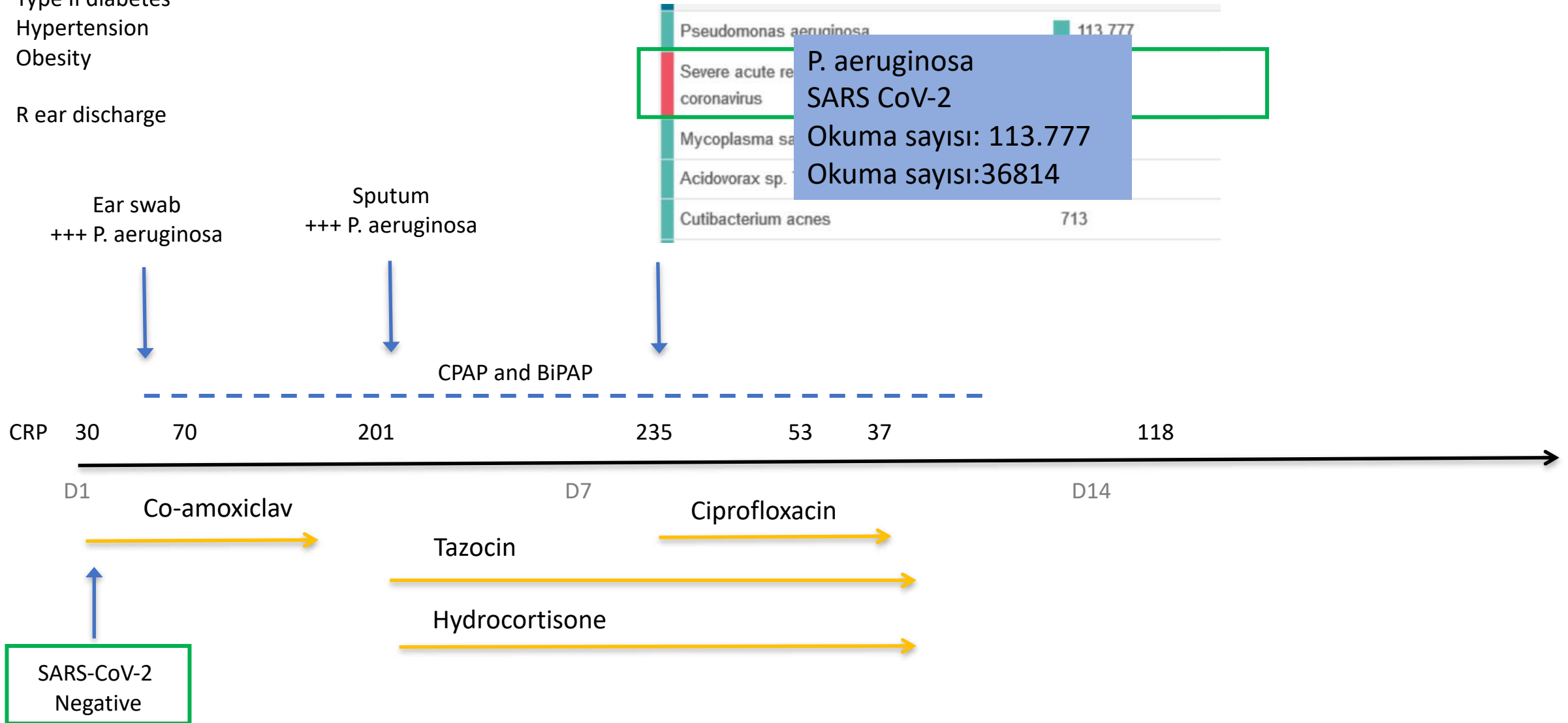


Case study 5: Looking ahead to incorporating RNA viruses:

72F admitted to ICU with cardiogenic shock post myocardial infarction

Type II diabetes
Hypertension
Obesity

R ear discharge



Özet bulgular: Hastaların %80'i fayda sağladı

- %45 hızlı antimikrobiyal reçete değişiklikleri
 - %20 eskalasyon çoğunlukla aynı gün
 - %25 deeskalasyon aynı gün
- 22 vakada tür tayinine ve 2 vakada kazanılmış direnç geni taşımaya bağlı eskalasyon çoğunlukla ertesi gün
- 34'ünde antimikrobiyal değişiklik yapılmadı
- 23 hastada eskalasyonu önledi/ hastaya uygun tedavi konusunda güvence verdi
- 7 immünomodülasyona yol açan enfeksiyon dışlandı
- 5 hastada hızlı enfeksiyon kontrol müdahaleleri gerçekleştirildi
- 4 Hasta örneği, güç üreyen veya beklenmeyen organizmalar içeriyordu:
 - M. Tüberküloz,
 - Tropheryma whipplei,
 - Sitomegalovirüs
 - YBÜ kaynaklı serogrup-1 dışı L. pneumophila

Hızlı Tanı: parametreler

performans

maliyet

Sonuç süresi

Hedeflenen
hasta
populasyonu

Panel bileşimi

Klinik yönetim
üzerine etkileri

Ulusal ve
uluslararası
rehberler

MU

- Konvansiyonel yöntemlerle beraber çalışılmalı
- Sonuçlar yorumlanırken klinik ve epidemiyolojik veriler dikkate alınmalı
- La
- Sc
- Er

EHU

- Ar

★ İsteddiğin hızlı gitmek ise
tekbaşına git, istediğın daha
ileriye gitmek ise beraber git...
İşbirliğı & koordinasyon

YBU

- İzolasyon, hasta yönetimi