26. TÜRK KLİNİK MİKROBİYOLOJİ VE İNFEKSİYON HASTALIKLARI KONGRESİ

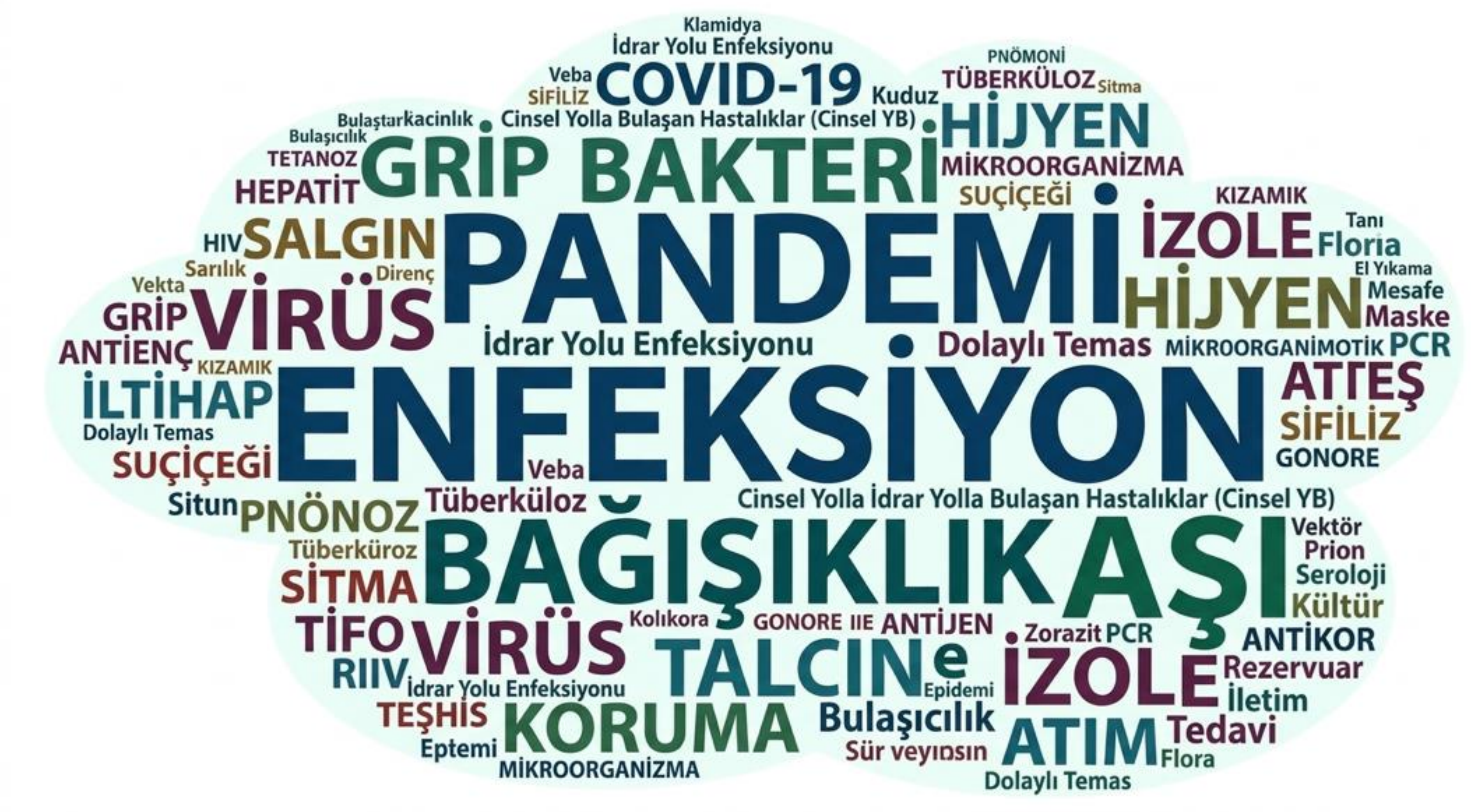
İnfeksiyon Hastalıklarında Tanı Yöntemleri ve Tanısal Yönetişim

Hedefe Yönelik Hızlı Moleküler Yöntemler ile Metagenomik ve Yeni Nesil Dizileme (NGS) Tabanlı Tanı Yöntemleri

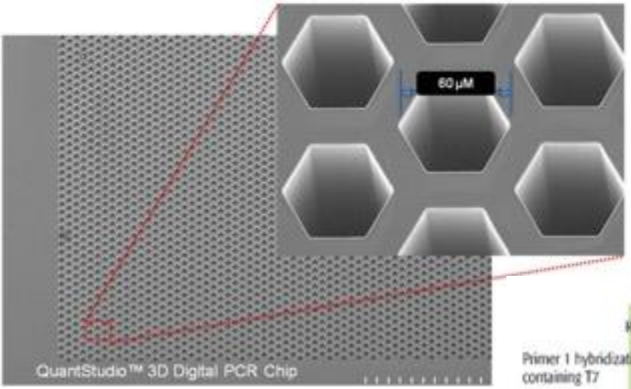
Dr. Mert A. Kuşkucu,
Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Koç Üniversitesi, İş Bankası Enfeksiyon Hastalıkları Araştırma Merkezi (KUISCID)

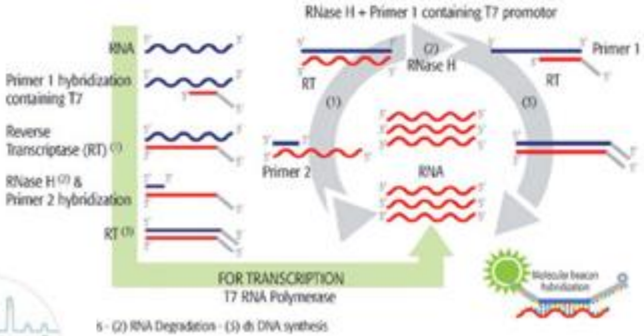
29 NİSAN–3 MAYIS 2026
ROYAL SEGİNUS OTEL, LARA - ANTALYA

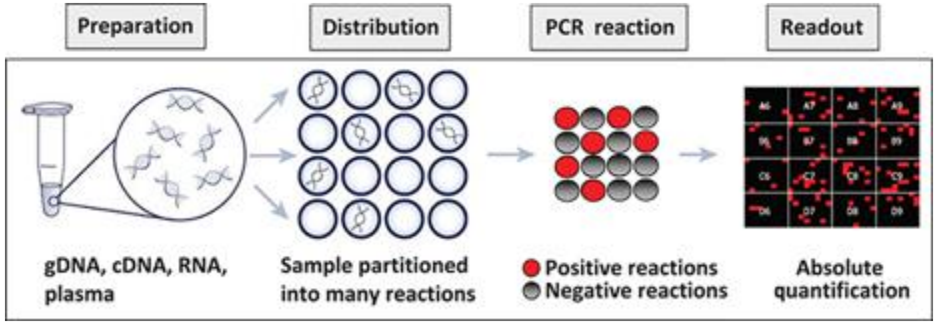
"Enfeksiyon hastalıkları denildiğinde sıklık sırasına göre akla gelenler ile bir kelime bulutu oluştur"

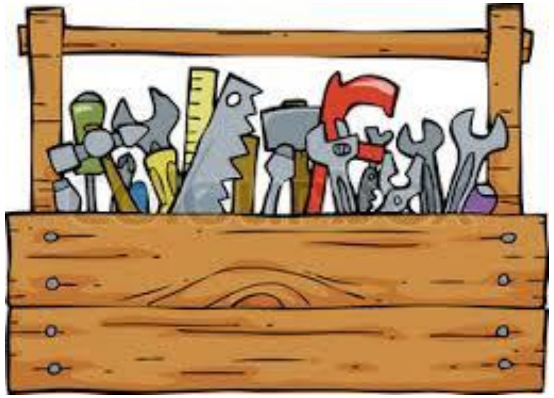


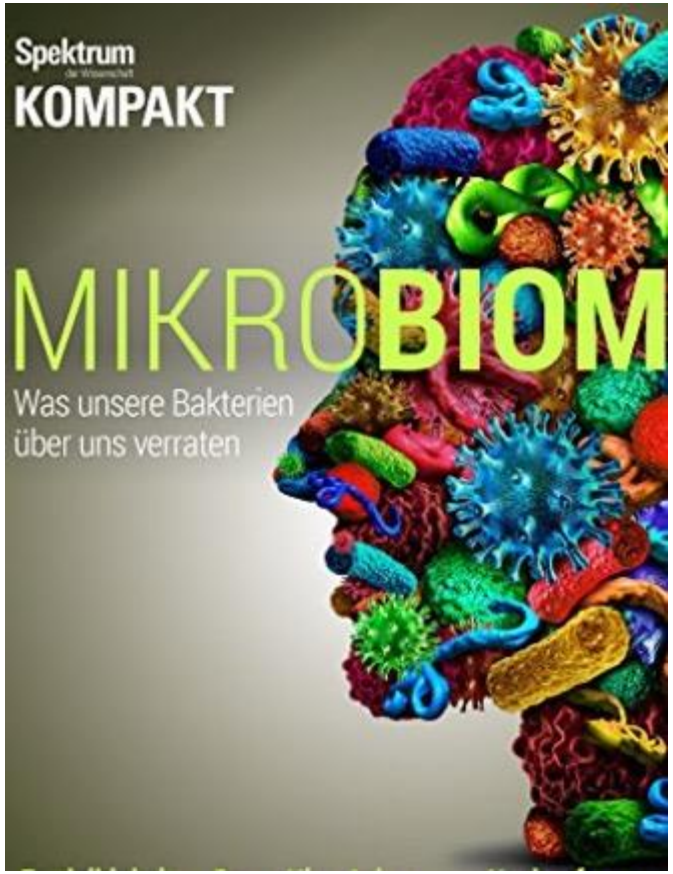
Alet Çantasındaki Pek Çok Alet;
ve Yeni Kavramlar;











Son sözü başta söylemek…

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY Journal of Clinical Microbiology®

Implementation of Rapid Molecular Infectious Disease Diagnostics: the Role of Diagnostic and Antimicrobial Stewardship

Kevin Messacar,[a,b] Sarah K. Parker,[b] James K. Todd,[b] Samuel R. Dominguez[b]

the microbiology laboratory today is exceedingly "faced with a superabundance of academic information and pressure to perform exhaustive, expensive, clinically irrelevant [testing]", which, when misguided "misleads physicians into erroneous diagnosis and inappropriate therapy".

"more practical, economical, clinically meaningful approach"

The clinical microbiology laboratory is in the midst of a diagnostic revolution.

Messacar K. J. Clin. Microbiol. doi:10.1128/JCM.02264-16

Ne Yapardım, Ne Yapıyorum, Ne Yapacağım?

	Yöntem	Avantajları	Dezavantajları
Klasik Yaklaşım	Boyama Yöntemleri (Gram, EZN vb)	Hızlı Ucuz	Yüksek etken yükü olmadıkça düşük duyarlılık Düşük özgüllük
	Kültür Yöntemleri	Çok sayıda örnek çalışmaya uygun Ucuz Altın Standart	Antibiyotik ve antifungal kullanımıyla sınırlı duyarlılık Hassas organizmalar için sınırlı hassasiyet Viral testte sınırlı kullanım Özellikle aside dirençli bakteri ve mantar kültürlerinde sonuç almak için uzun zaman gerekli
	Serolojik Yöntemler	Akut enfeksiyondan sonra tanı potansiyeli Ucuz	Akut enfeksiyon sırasında negatif olabilir Humoral bağışıklık yetersizliklerinde yanlış negatifler Yanlış pozitifler

Enfeksiyon Hastalığı Tanı;
Ne Yapardım, Ne Yapıyorum, Ne Yapacağım?

	Yöntem	Avantajları	Dezavantajları
Yeni Klasikler	Hedefe Yönelik PCR	Basit Hızlı Ucuz Kantitatitasyon yapabilme	**Hipoteze bağlıdır** Her zaman çalışmayabilecek primerler Genomun çok küçük bir kısmıyla sınırlıdır
	Çoklu PCR	Hızlı Birden fazla organizmayı tespit edebilir	Birden fazla amplicon içerdiği için görece olarak tek hedefli PCR’lara göre düşük duyarlılık Primer bağlanma bölgesi mutasyonları nedeni ile yalancı negatiflik
	MALDI-TOF	Yüksek özgüllük Kültür sonrası hızlı	Kültürde üremiş izolat gerektirir

Enfeksiyon Hastalığı Tanı;
Ne Yapardım, Ne Yapıyorum, Ne Yapacağım?

	Yöntem	Avantajları	Dezavantajları
Yeni Yaklaşımlar	Klasik Dizileme için Hedefe Yönelik (16s, ITS) Universal PCR	Görece Ucuz Steril vücut sıvısında tek patojeni saptayabilir	Yüksek etken yükü olmadıkça düşük duyarlılık Çevresel kontaminasyon eğilimli
	NGS için Hedefe Yönelik Universal (16s, ITS) PCR	Steril vücut sıvısındaki patojenleri saptayabilir, Çoklu test olasılığı	Yüksek etken yükü olmadıkça düşük duyarlılık Kantitasyon olasılığı Pahalı ve zaman alıcı Kütüphane hazırlamak karmaşık
	Metagenom Analizi	**Hipotezsiz veya tarafsız test** Yeni veya beklenmedik organizmaların keşfi Kantitasyon potansiyeli Genomun herhangi bir bölümünü tespit etme yeteneği Konak ile ilgili bilgi sağlar	Pahalı Zaman alıcı Tüm genomlar için veritabnı mevcut değildir Çevresel kontaminasyon eğilimli

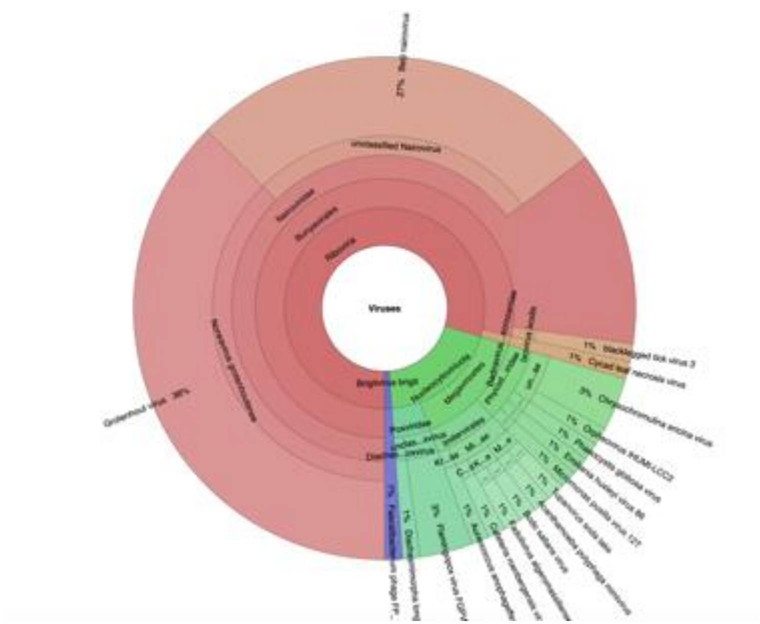
Hipotez; Olamak ya da Olmamak…

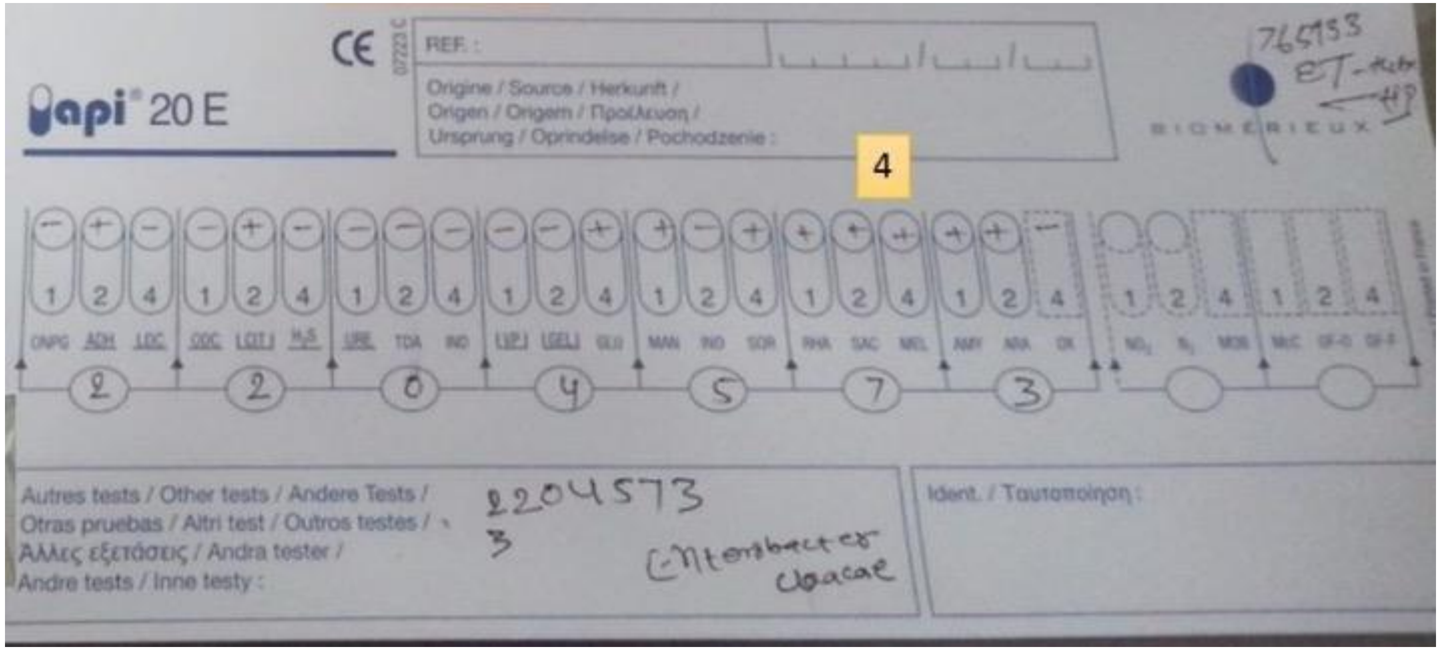
Hedefe Yönelik Hızlı
Moleküler Yöntemler
Çoklu Test Formatları

Yeni Nesil Dizilemeye
Dayalı Yaklaşımlar
Metagenom

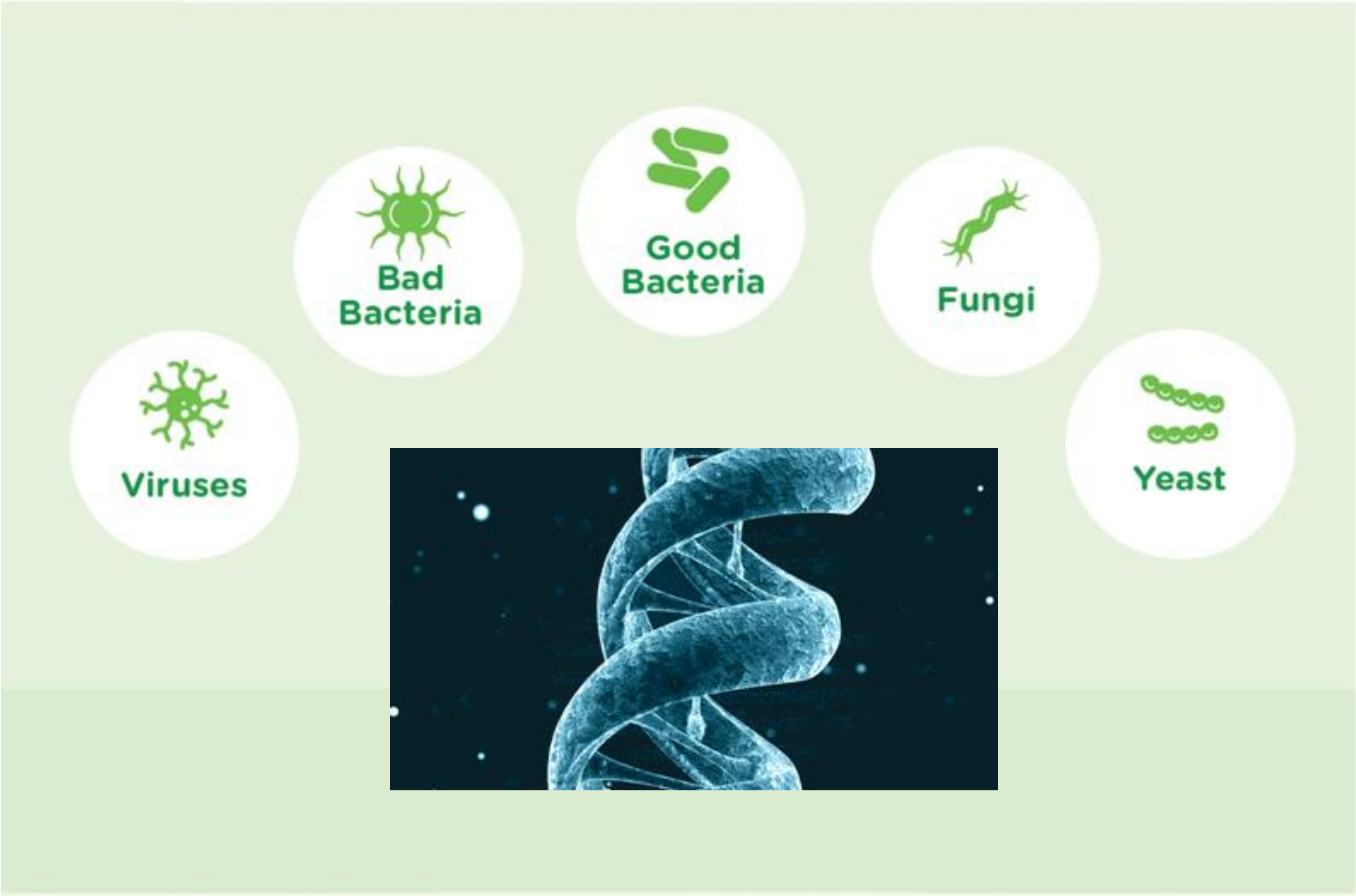
Büyük Veri


AI
11001



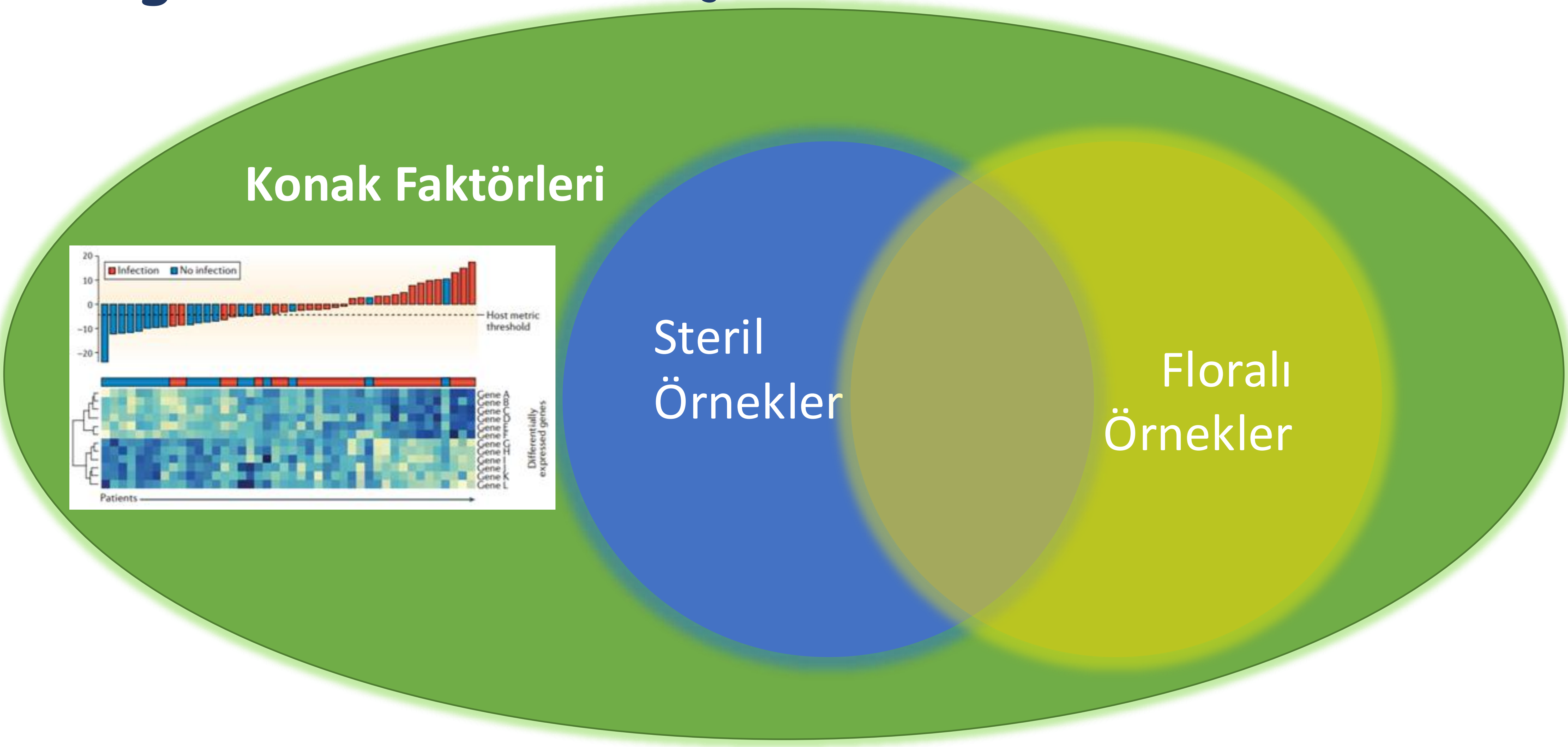

api 20 E
REF :
Origine / Source / Herkunft /
Origen / Origem / Προέλευση /
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :
BIOMÉRIEUX
4
ONPG ADH LDC ODC [CIT] H2S URE TDA IND [VP] [GEL] GLU MAN INO SOR RHA SAC MEL AMY ARA OX
2 2 0 4 5 7 3
Autres tests / Other tests / Andere Tests /
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
Andre tests / Inne testy :
2204573
Enterobacter cloacae
Ident. / Ταυτοποίηση :

METAGENOM



Unbiased and Hypothesis-Free

Metagenomik Tanı Yaklaşımı



Metagenomics to Assist in the Diagnosis of Bloodstream Infection

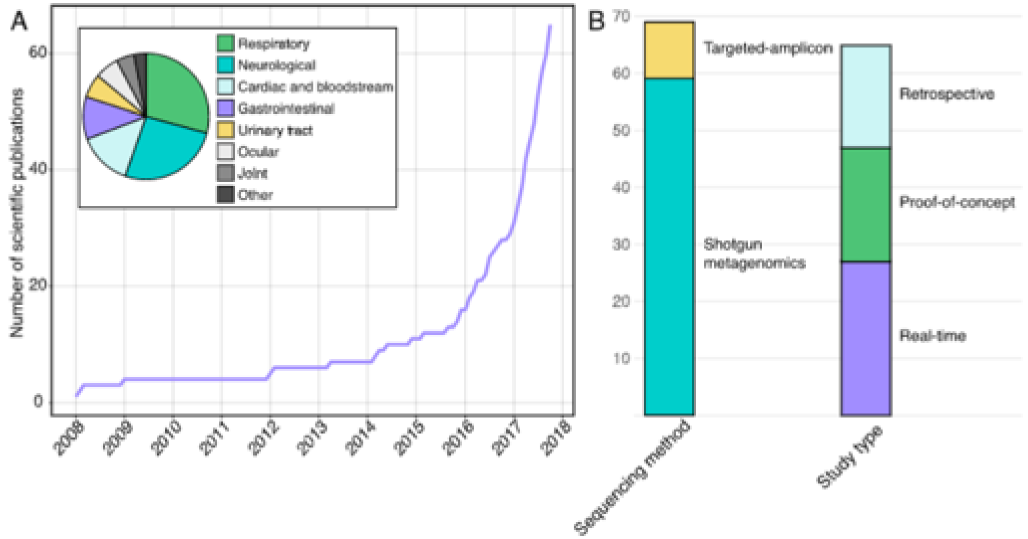
Alexander L. Greninger[1*] and Samia N. Naccache[2]

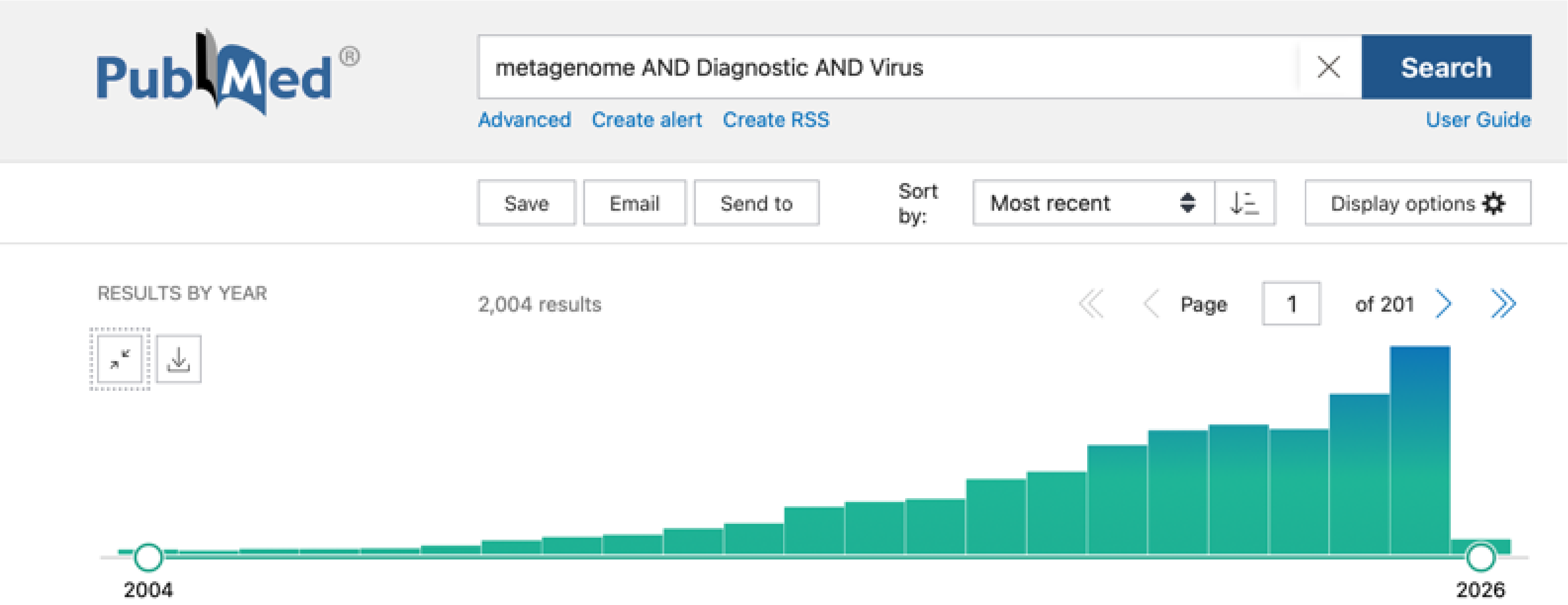
Preanalitik	• Normal cilt florası • Antibiyotik kullamı • Geçici bakteriyemi • mNGS doğrulaması için kullanılan fazla numuneler, steril olmayan kimya veya hematoloji bölümlerinde teknikler
Analitik	• Reaktifler (örn. elüsyon tamponları, nükleik asit ekstraksiyon kitleri, enzimler) sırasında kontamine olmuştur. çevresel viral, bakteriyel veya fungal kirleticilerle üretim • Kullanıcının normal florası veya potansiyel patojenlerin yayılması (gizli solunum veya ishal virüsleri) • Ekstraksiyon, ters transkripsiyon, zenginleştirme, kütüphane hazırlığı sırasında çapraz kontaminasyon • Önceden oluşturulmuş kitaplıklarla çapraz kontaminasyon • Aynı barkod şemasını kullanarak önceki çalışmalardan sızma • Aynı çalıştırmada farklı barkodlardan indeks atlama
Postanalitik	• Bildirilen patojenin kontaminant mı, normal flora mı yoksa kandan gelen bir patojen mi olduğunun belirlenmesi

Mini Review

Highlighting Clinical Metagenomics for Enhanced Diagnostic Decision-making: A Step Towards Wider Implementation

Jessica D. Forbes [a,b,c], Natalie C. Knox [c], Christy-Lynn Peterson [c], Aleisha R. Reimer [c,*]

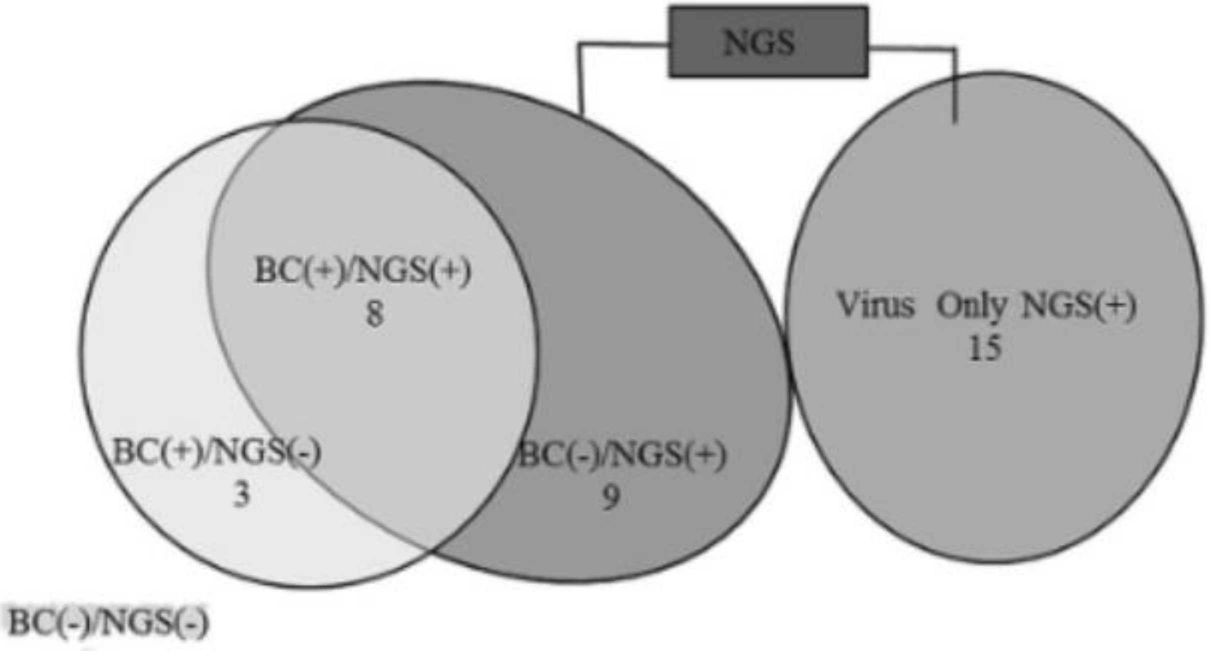




ORIGINAL ARTICLE

Diagnosis of Sepsis with Cell-free DNA by Next-Generation Sequencing Technology in ICU Patients

Yun Long,[a,*] Yinxin Zhang,[b,d,e,*] Yanping Gong,[b,d,e,*] Ruixue Sun,[b,d,e,*] Longxiang Su,[a] Xin Lin,[b,d,e]



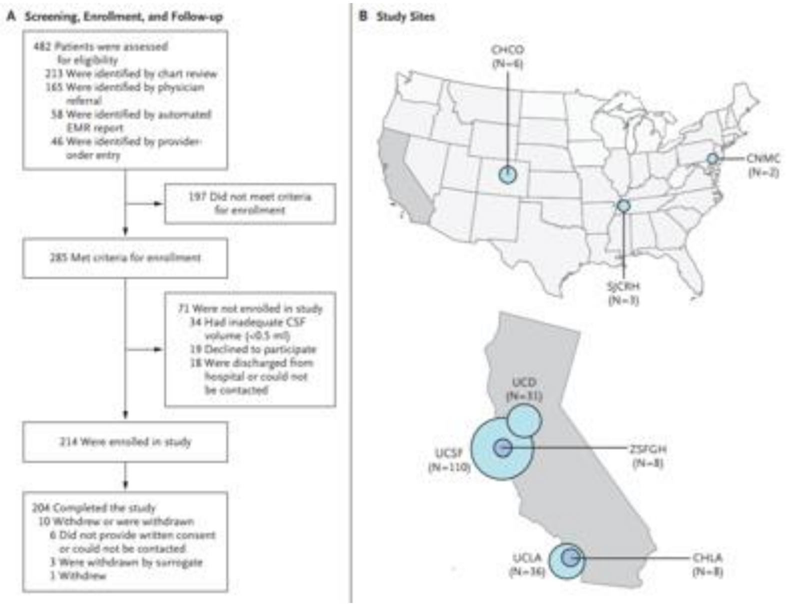
equality of proportions ($p = 0.013$). In addition, 15 viral pathogens including CMV, EBV, HSV-1 and human parvovirus B19 were identified in 14 samples by NGS. Combined

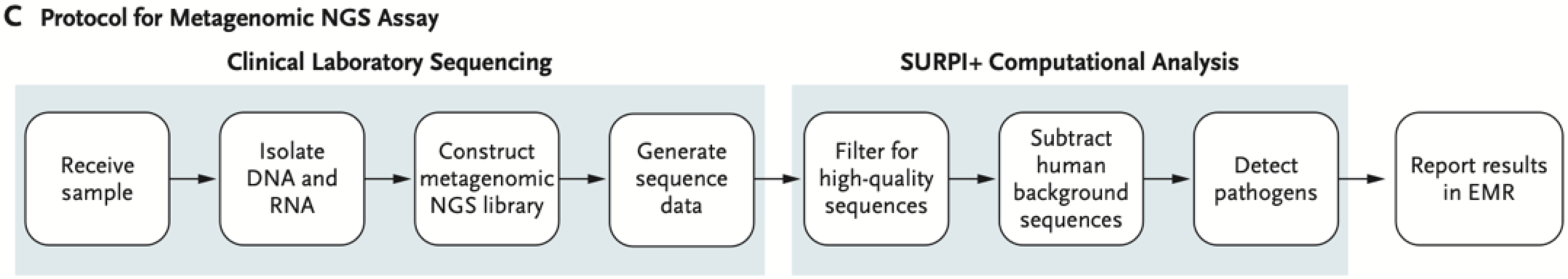
analysis

Type	Pathogen	Strain identified		
		BC (+)	NGS (+)	BC and NGS
Gram-positive bacteria	*Enterococcus faecalis*	2	1	2
	Enterococcus faecium	1	3	3
	Lactococcus lactis	0	1	1
	Staphylococcus aureus	1	2	2
Gram-negative bacteria	*Acinetobacter baumannii*	2	1	2
	Aeromonas hydrophila	0	1	1
	Bacteroides fragilis	1	1	1
	Citrobacter freundii	1	1	1
	Escherichia coli	0	1	1
	Klebsiella pneumoniae	1	3	3
	Pseudomonas aeruginosa	1	2	2
Fungi	*Candida albicans*	1	0	1
	Total	11	17	20

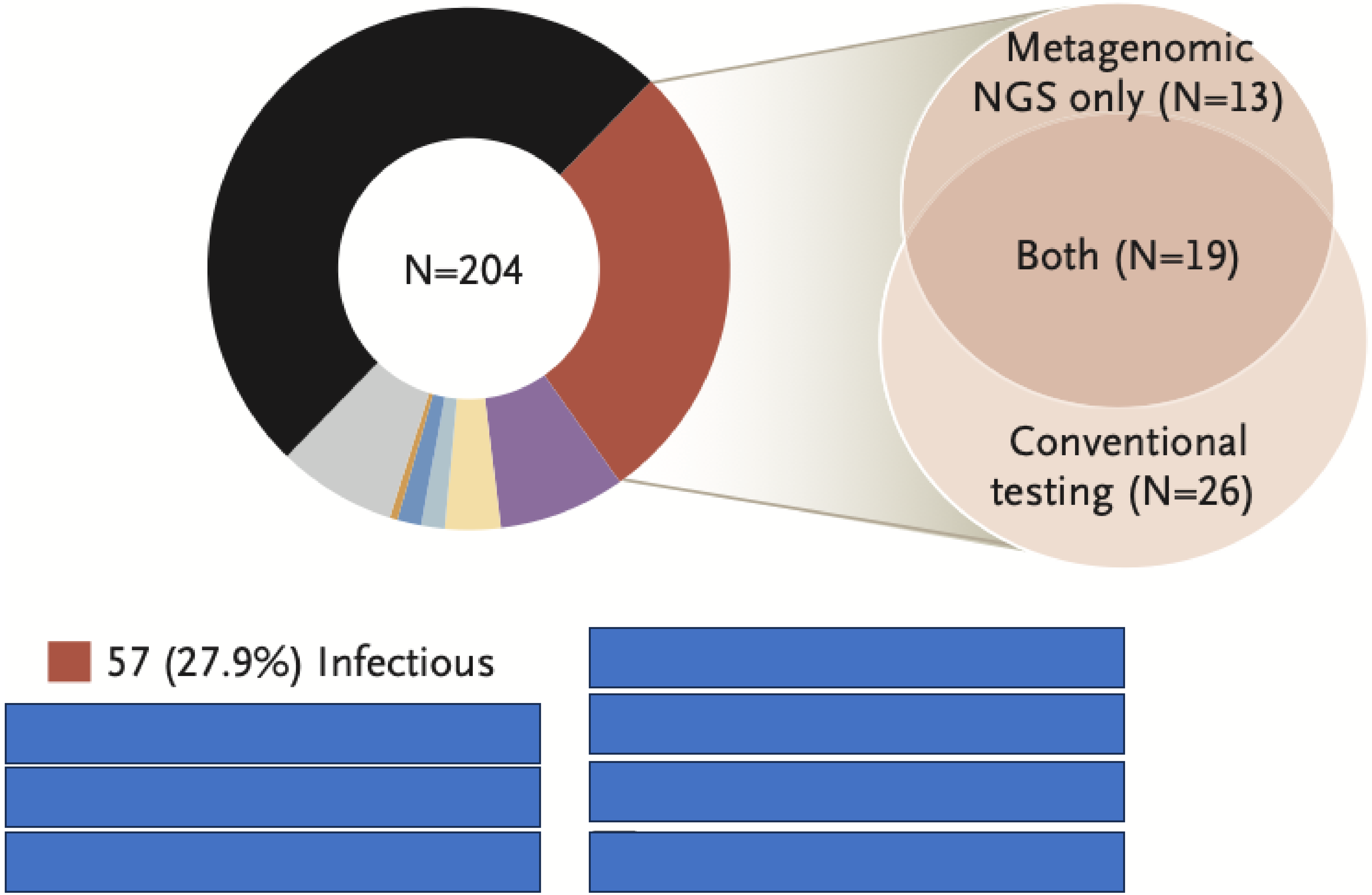
Clinical Metagenomic Sequencing for Diagnosis of Meningitis and Encephalitis

M.R. Wilson, H.A. Sample, K.C. Zorn, S. Arevalo, G. Yu, J. Neuhaus, S. Federman,

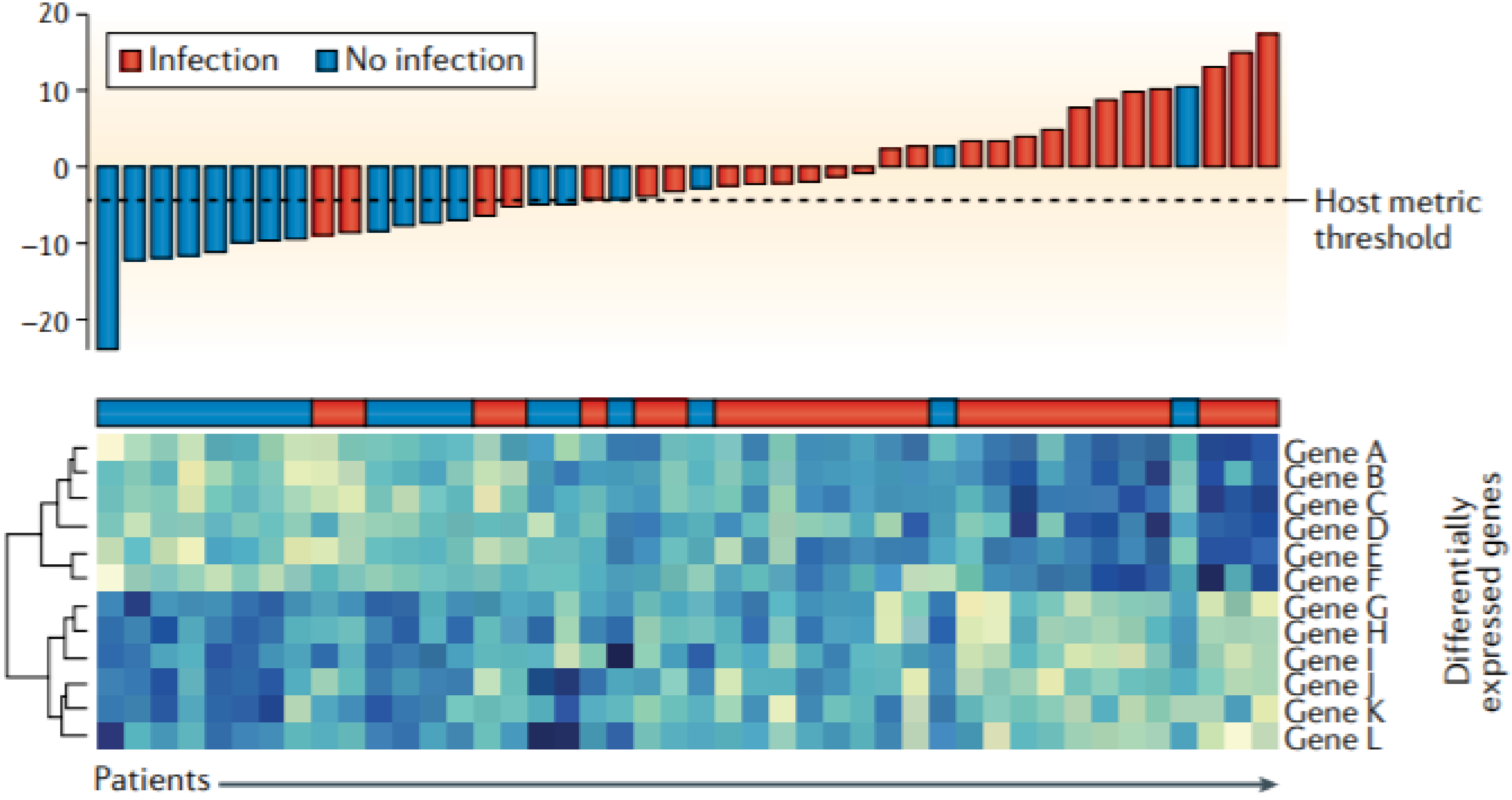


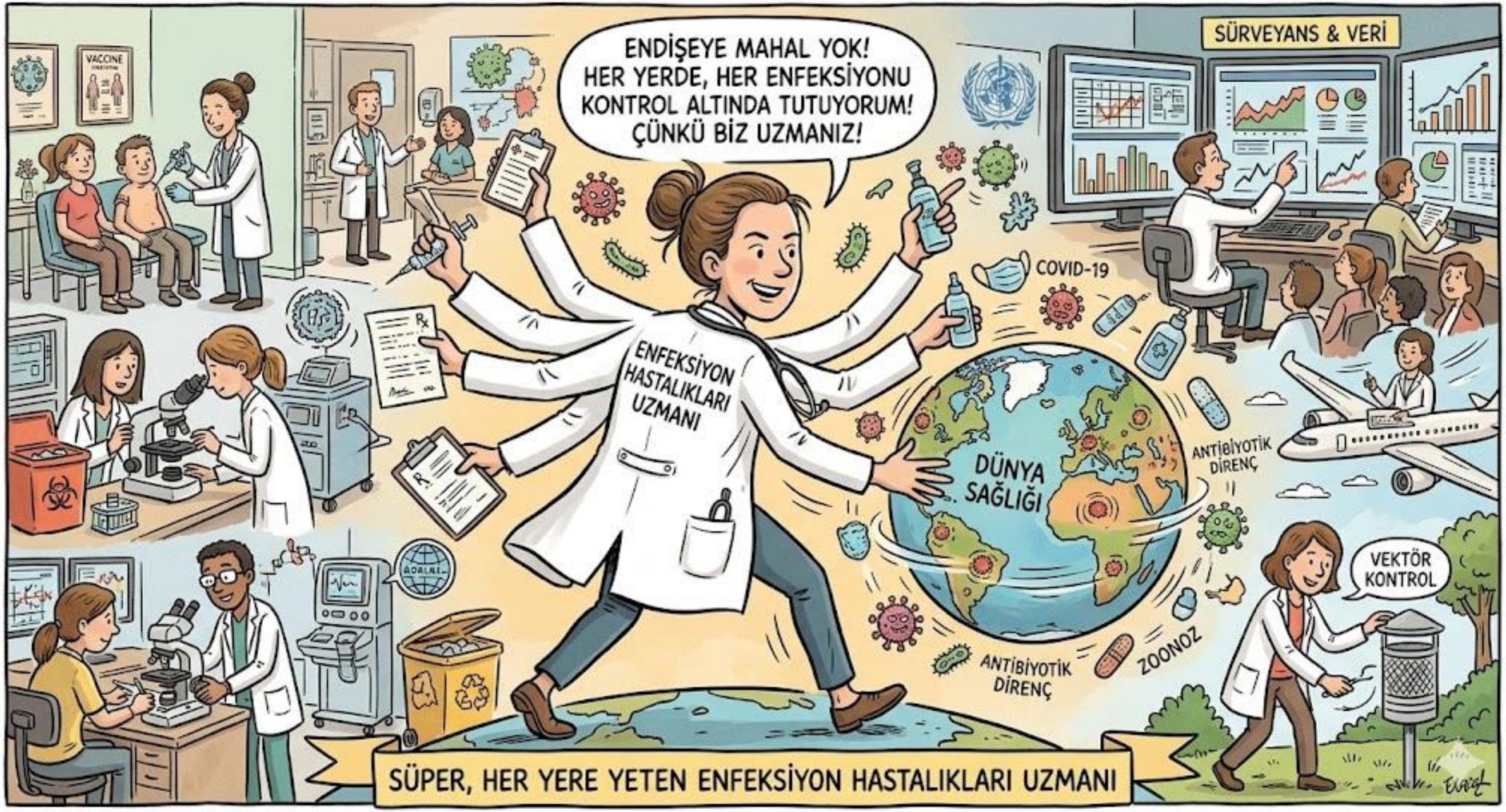


A Established Diagnoses in the Study Patients



Konak Faktörleri… Transkriptom

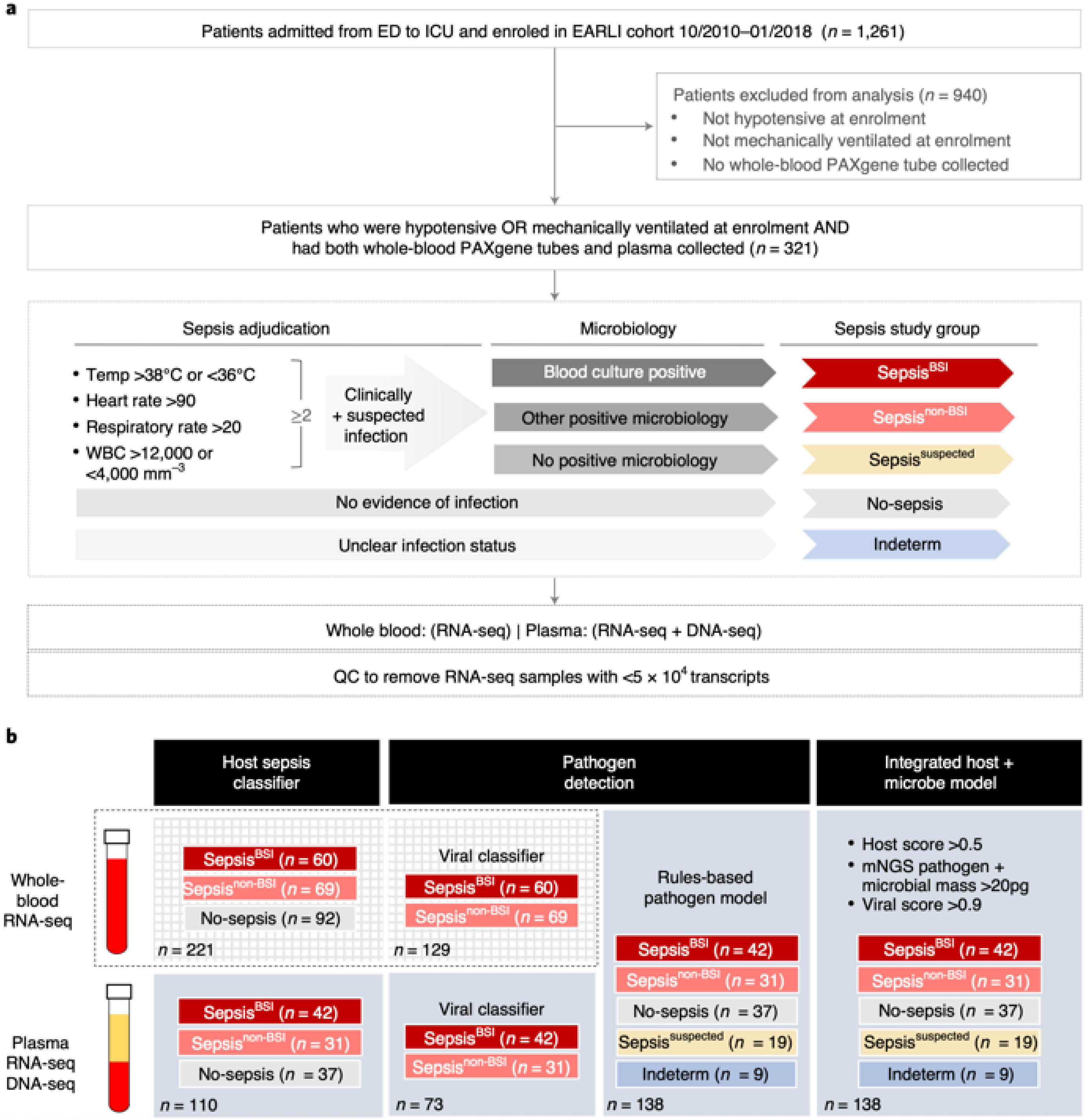


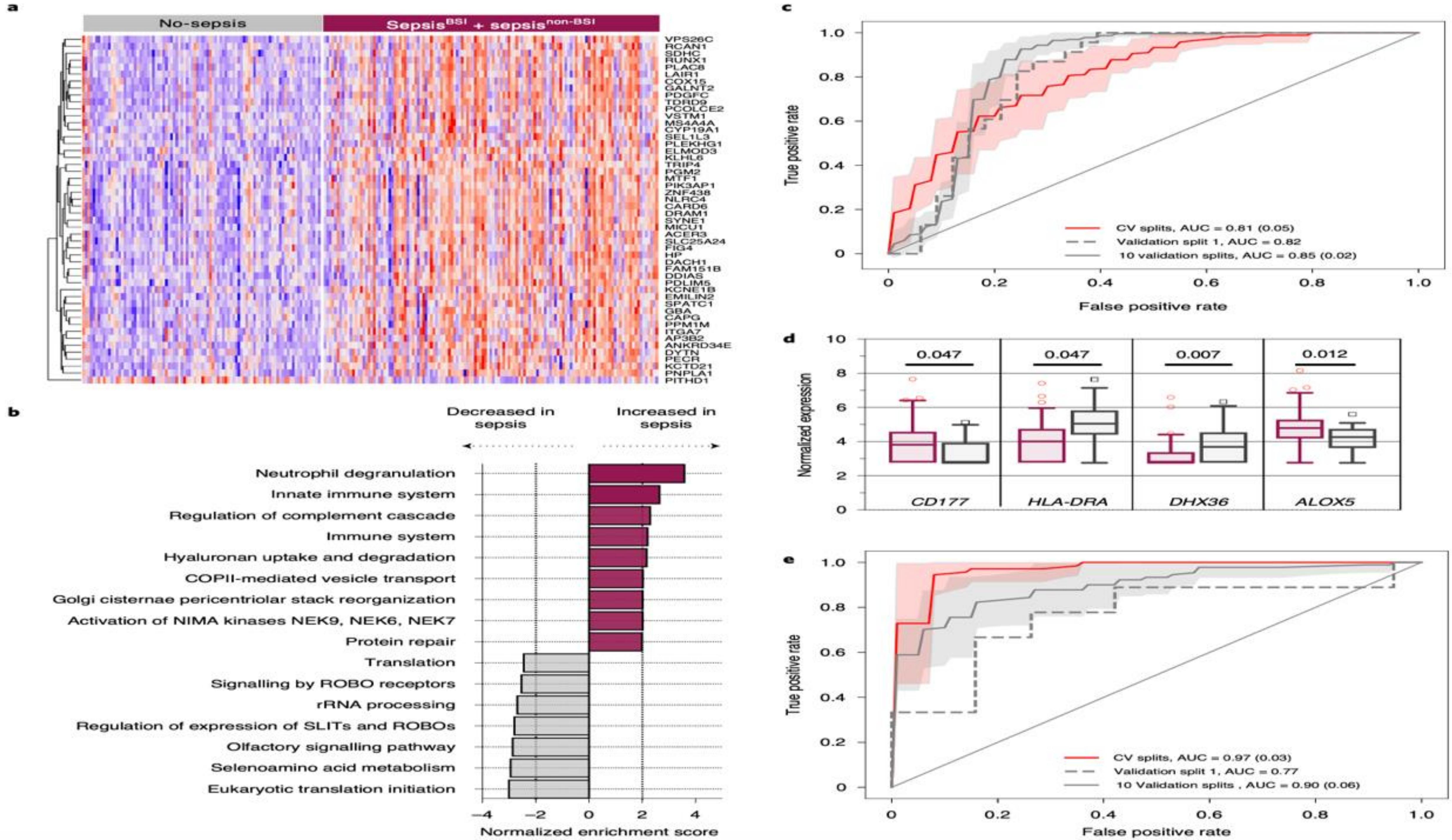

ENDİŞEYE MAHAL YOK!
HER YERDE, HER ENFEKSİYONU
KONTROL ALTINDA TUTUYORUM!
ÇÜNKÜ BİZ UZMANIZ!
SÜRVEYANS & VERİ
VACCINE
ENFEKSİYON
HASTALIKLARI
UZMANI
COVID-19
DÜNYA
SAĞLIĞI
ANTİBİYOTİK
DİRENÇ
ANTİBİYOTİK
DİRENÇ
ZOONOZ
VEKTÖR
KONTROL
SÜPER, HER YERE YETEN ENFEKSİYON HASTALIKLARI UZMANI

nature microbiology

Article https://doi.org/10.1038/s41564-022-01237-2

Integrated host-microbe plasma metagenomics for sepsis diagnosis in a prospective cohort of critically ill adults





a
No-sepsis
Sepsis^{BSI} + sepsis$^{non\text{-}BSI}$
VPS26C
RCAN1
SDHC
RUNX1
PLAC8
LAIR1
COX15
GALNT2
PDGFC
TDRD9
PCOLCE2
VSTM1
MS4A4A
CYP19A1
SEL1L3
PLEKHG1
ELMOD3
KLHL6
TRIP4
PGM2
MTF1
PIK3AP1
ZNF438
NLRC4
CARD6
DRAM1
SYNE1
MICU1
ACER3
SLC25A24
FIG4
HP
DACH1
FAM151B
DDIAS
PDLIM5
KCNE1B
EMILIN2
SPATC1
GBA
CAPG
PPM1M
ITGA7
AP3B2
ANKRD34E
DYTN
PECR
KCTD21
PNPLA1
PITHD1
b
Decreased in sepsis
Increased in sepsis
Neutrophil degranulation
Innate immune system
Regulation of complement cascade
Immune system
Hyaluronan uptake and degradation
COPII-mediated vesicle transport
Golgi cisternae pericentriolar stack reorganization
Activation of NIMA kinases NEK9, NEK6, NEK7
Protein repair
Translation
Signalling by ROBO receptors
rRNA processing
Regulation of expression of SLITs and ROBOs
Olfactory signalling pathway
Selenoamino acid metabolism
Eukaryotic translation initiation
Normalized enrichment score
c
True positive rate
False positive rate
CV splits, AUC = 0.81 (0.05)
Validation split 1, AUC = 0.82
10 validation splits, AUC = 0.85 (0.02)
d
Normalized expression
0.047
0.047
0.007
0.012
CD177
HLA-DRA
DHX36
ALOX5
e
True positive rate
False positive rate
CV splits, AUC = 0.97 (0.03)
Validation split 1, AUC = 0.77
10 Validation splits , AUC = 0.90 (0.06)

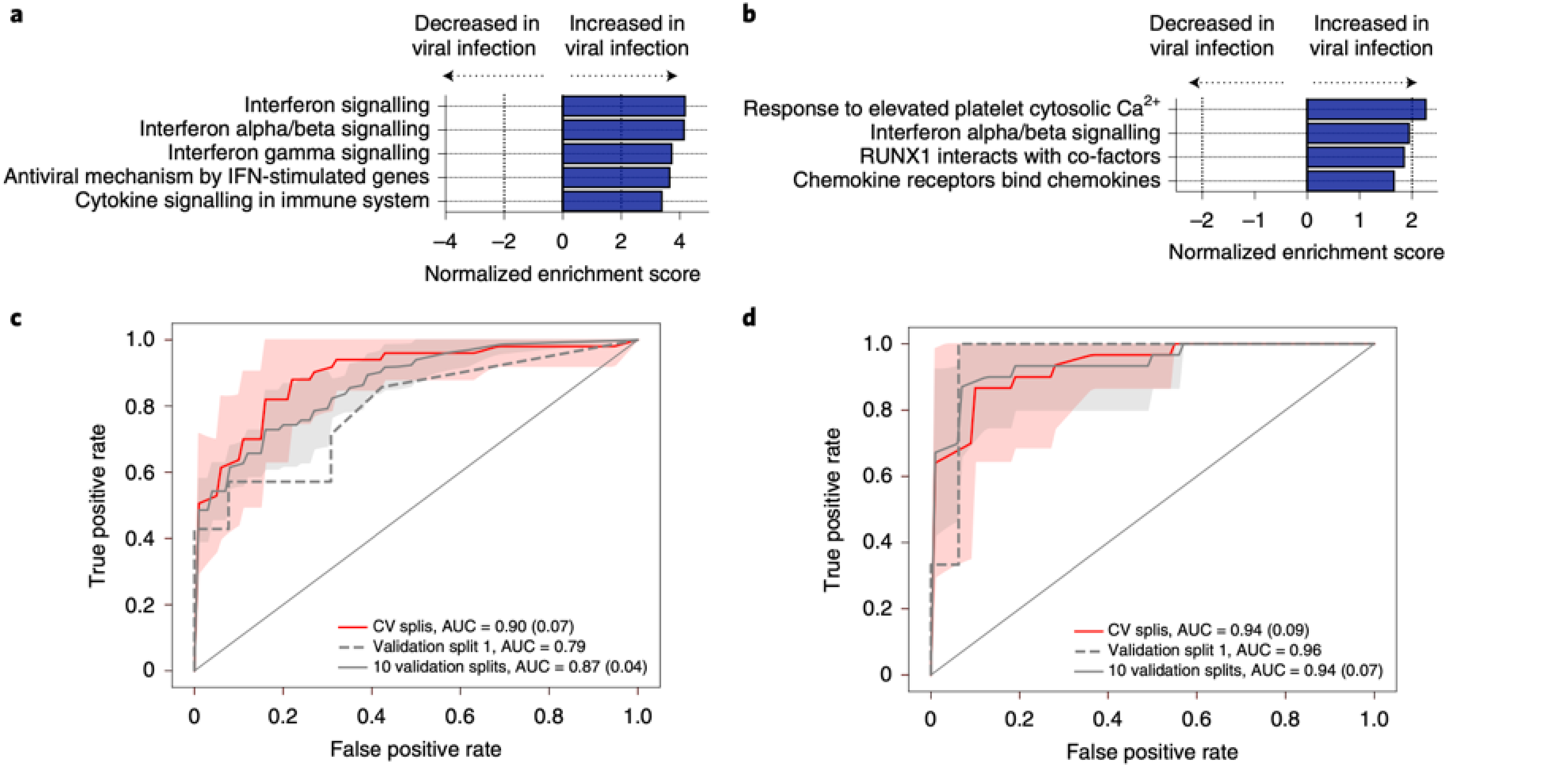
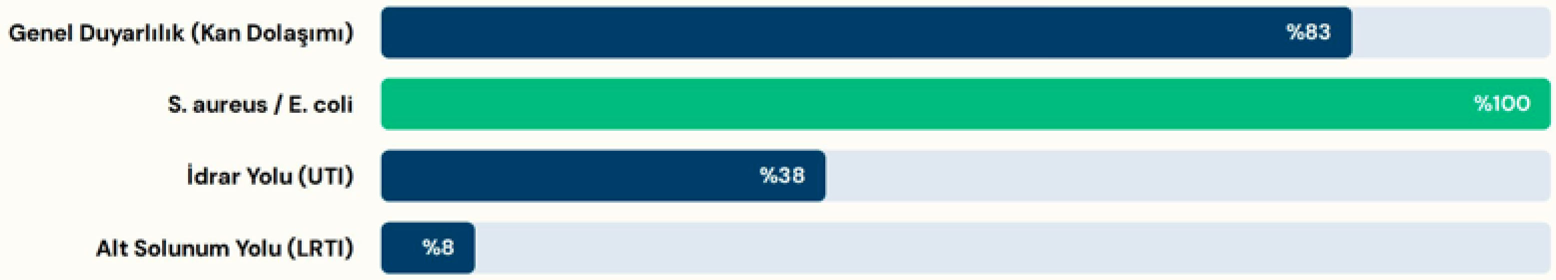


Fig. 4 | Detection of viral sepsis based on host gene expression. **a**, GSEA of differentially expressed genes from whole-blood RNA-seq ($n = 129$) demonstrating pathways enriched in patients with viral sepsis. The top five most significant pathways by *P* value (hypergeometric test) are plotted. Source data including enriched genes and pathway *P* values are provided in Supplementary Data 12a and in the Source Data file. **b**, GSEA of differentially expressed genes from plasma RNA-seq ($n = 73$) demonstrating pathways enriched in patients with viral sepsis. All identified pathways are plotted. Source data including enriched genes and pathway *P* values (hypergeometric test) are provided in Supplementary Data 12b and in the Source Data file. **c**, ROC curve demonstrating performance of the bSVM classifier for detecting viral sepsis from whole-blood RNA-seq ($n = 129$). The AUC and s.d. (in parentheses, when applicable) are listed for CV in the training set (red line: average over 10 random splits; red shaded area: ±1 s.d.), the held-out validation set (dashed grey line) and over 10 randomly generated validation sets (solid grey line: average; grey shaded area: ±1 s.d.). **d**, ROC curve demonstrating performance of the bSVM classifier for detecting viral sepsis from plasma RNA-seq ($n = 73$). The AUC and s.d. are listed for CV in the training set (red line: average over 10 random splits; red shaded area: ±1 s.d.), the held-out validation set (dashed grey line) and over 10 randomly generated validation sets (solid grey line: average; grey shaded area: ±1 s.d.).

Patojen Tespit Performansı



Özgüllük oranı No-Sepsis grubunda %73 olarak gerçekleşti. Yanlış negatiflerin çoğu, örnekleme öncesi antibiyotik alımı ile ilişkilidir.

Viral Sepsis ve Konakçı Yanıtı

İnterferon Sinyali

Antiviral bağışıklık için zenginleştirilmiş yolaklar saptandı.

İkincil Viral Sınıflandırıcı

RNA virüslerinin doğrudan mNGS ile tespitindeki zorlukları aşmak için geliştirildi.

%96 AUC Doğrulama

Klinik solunum yolu viral PCR testlerinin %92'sini başarıyla öngördü.

Entegre Konakçı + Mikrop Modeli

%99 Duyarlılık

Kültürle kanıtlanmış sepsis vakalarının neredeyse tamamını tanımladı.

%74 Tahmin Gücü

"Şüpheli" (kültür negatif) vakaların %74'ünde sepsis öngördü.

%89 Tanı Doğruluğu

Belirsiz statüdeki vakaların %89'unu sepsis olarak sınıflandırdı.

%78 Özgüllük

Enfeksiyöz olmayan durumları başarıyla dışlama potansiyeli gösterdi.

Tanısal Üstünlük

Entegre mNGS yaklaşımı, acil serviste kullanılan mevcut klinik skorlardan çok daha yüksek performans gösterdi.

- **Entegre mNGS:** AUC 0.81 – 0.97
- **Klinik Değişkenler:** AUC 0.62
- **qSOFA Skoru:** AUC 0.48

Journal of Medical Virology 88:1152–1158 (2016)

Relationship of Plasma Cell-Free DNA Level With Mortality and Prognosis in Patients With Crimean–Congo Hemorrhagic Fever

Mehmet Bakir,[1*] Aynur Engin,[1] Mert Ahmet Kuskucu,[2] Sevtap Bakir,[3] Omür Gündag,[1] and Kenan Midilli[2]

[1]*Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Cumhuriyet University, Sivas, Turkey*
[2]*Department of Microbiology, Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul, Turkey*
[3]*Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Cumhuriyet University, Sivas, Turkey*

Diagnostic Microbiology & Infectious Disease 110 (2024) 116367

Contents lists available at ScienceDirect

Diagnostic Microbiology & Infectious Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/diagmicrobio

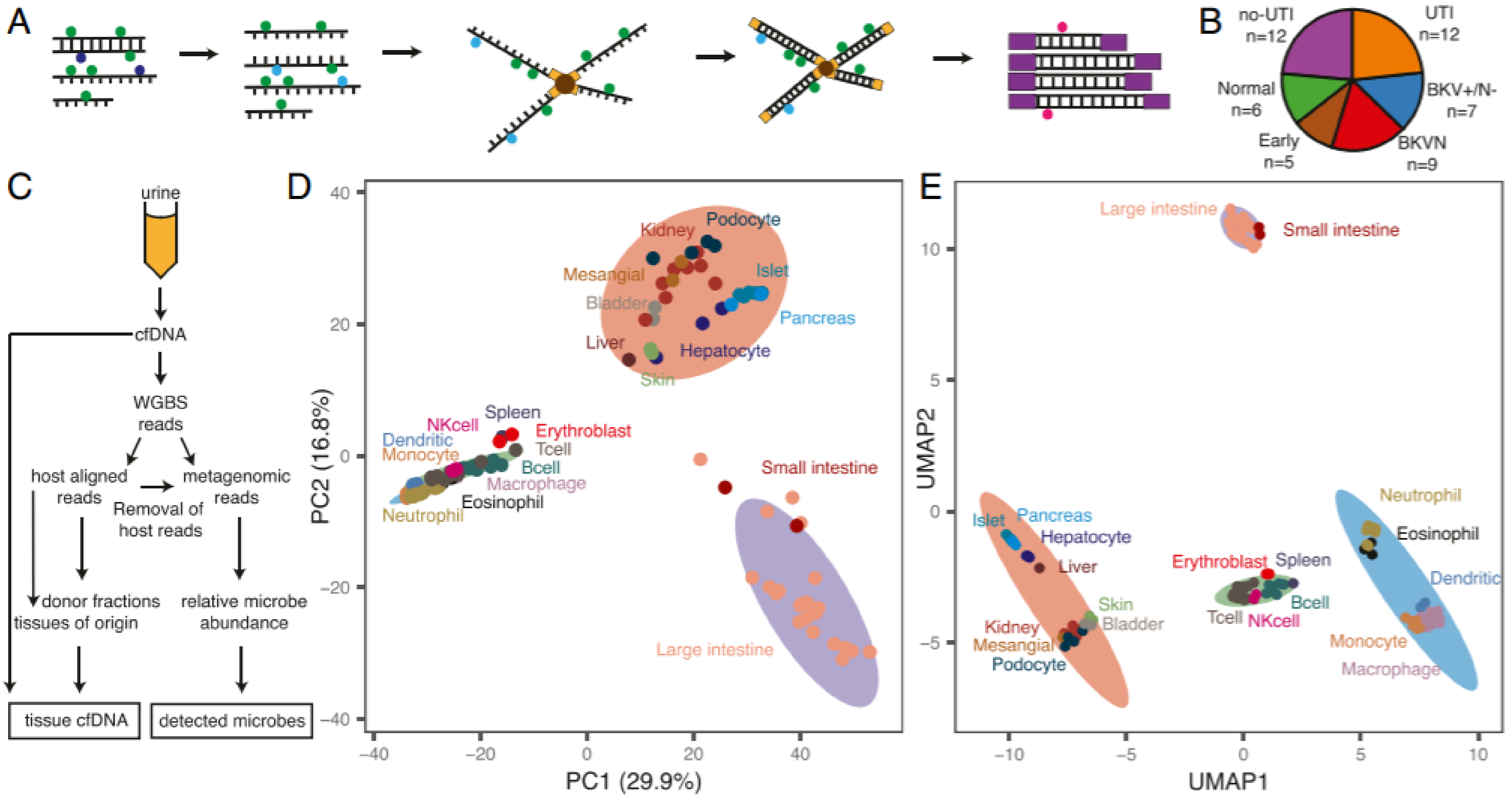
Original Article

Cell free DNA as a new prognostic biomarker for COVID-19, A prospective cohort study

Hazal Erdem [a,b,*], İlker İnanç Balkan [b], Rıdvan Karaali [b], Seval Ürkmez [c], Birgül Mete [b], Gökhan Aygün [b,d], Neşe Saltoğlu [b], Ömer Fehmi Tabak [b], Mert Ahmet Kuşkucu [d,e,f]

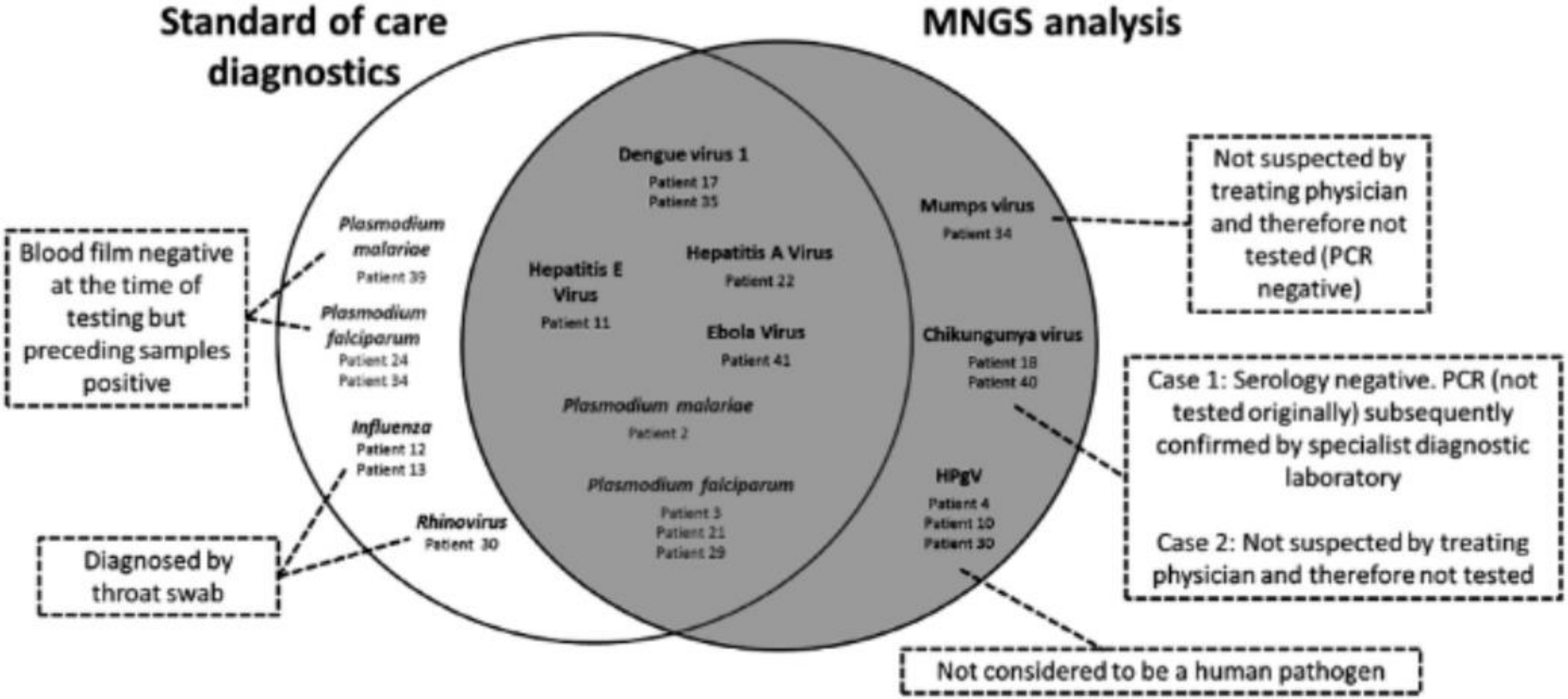
A cell-free DNA metagenomic sequencing assay that integrates the host injury response to infection

Alexandre Pellan Cheng[a], Philip Burnham[a], John Richard Lee[b,c], Matthew Pellan Cheng[d,e], Manikkam Suthanthiran[b,c], Darshana Dadhania[b,c,1,2], and Iwijn De Vlaminck[a,1,2]



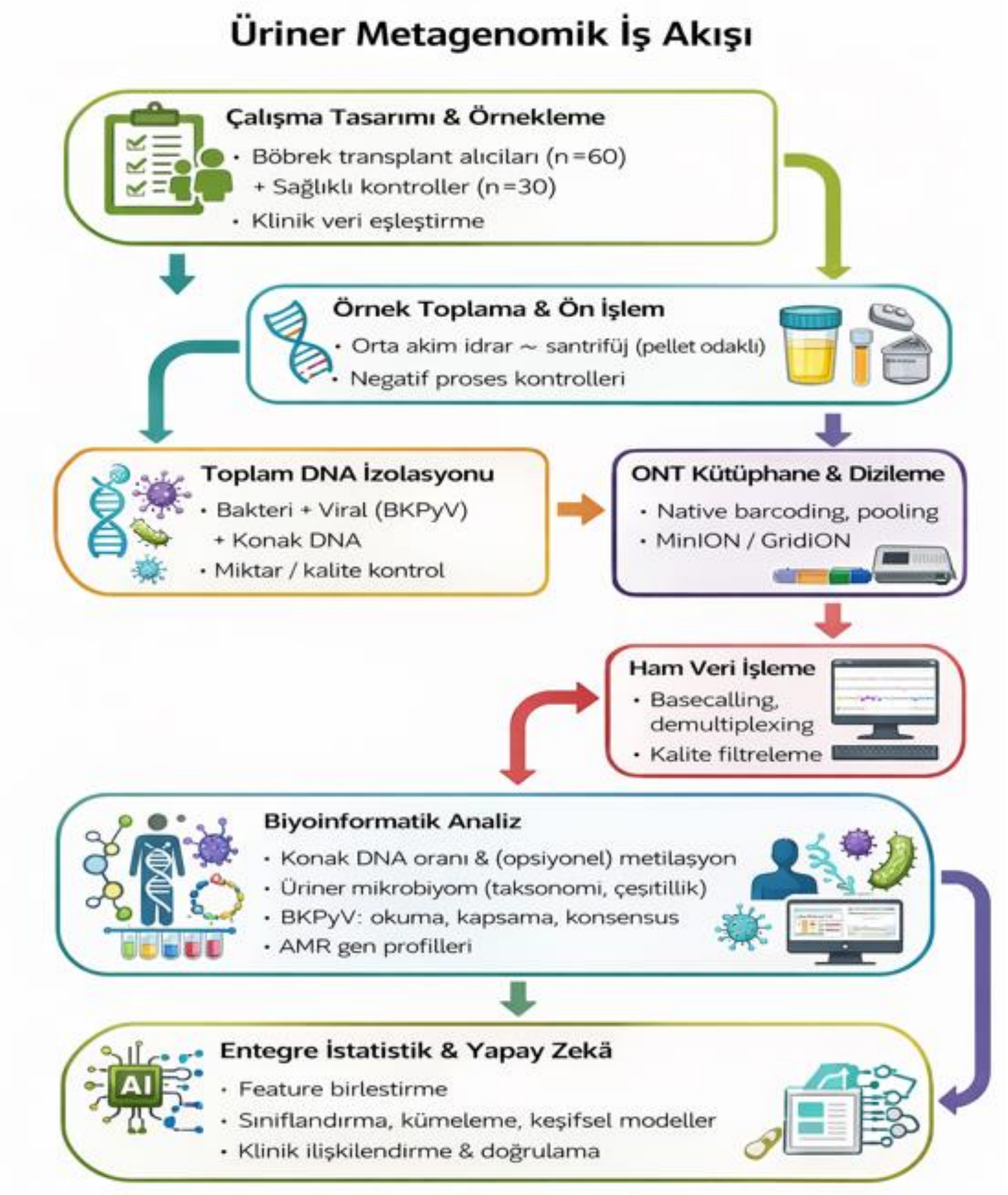
Metagenomic next-generation sequencing aids the diagnosis of viral infections in febrile returning travellers

Hanna Jerome[a,1], Callum Taylor[b,1], Vattipally B. Sreenu[a], Tanya Klymenko[a],



Methods: Plasma samples from 40 returning travellers presenting with a fever of ≥38°C were sequenced using MNGS on the Illumina MiSeq platform and compared with standard-of-care diagnostic assays.
Results: In total, 11/40 patients were diagnosed with a viral infection. Standard of care diagnostics re-

Böbrek Transplant Alıcılarında BK Poliomavirüs Reaktivasyonu ile Üriner Mikrobiyom ve Konak DNA Dinamiklerinin Yeni Nesil Dizileme Tabanlı Entegre Analizi

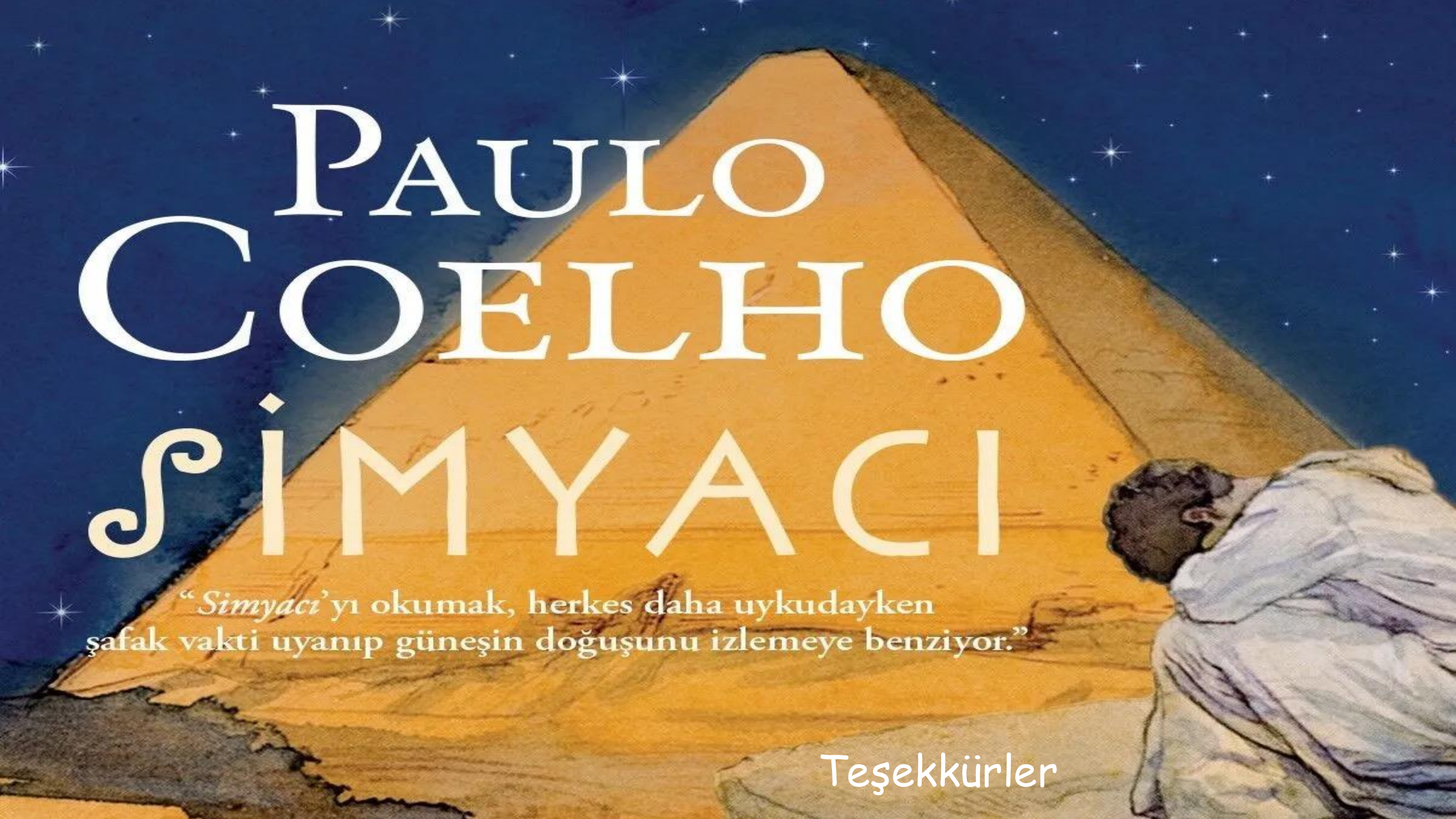


Nasıl başa çıkacağım ???

Yapay Zeka

Dünyada her şey için, maddiyat için, ma'neviyat için, hayat için, muvaffakiyet için en hakiki mürşid ilimdir, fendir. İlim ve fennin hâricinde mürşid aramak gaflettir, cehalettir, dalâlettir.

Doğal Zeka



Teşekkürler