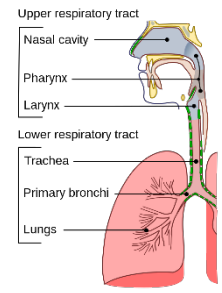


Toplum Kökenli Akut Solunum Yolu Enfeksiyonlarının Tanısında Sendromik Yaklaşım

Dr. Soner Yılmaz
SBÜ Gülhane Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD

Alt Solunum Yolu Enfeksiyonları



- Bronşit
- Bronşiolit
- Pnömoni

Etyolojik neden	<ul style="list-style-type: none">• İnfeksiyöz Noninfeksiyöz
Anatomik yerleşim	<ul style="list-style-type: none">• Lober Bronkopnömoni (löbüler) İnterstisiyel
Klinik tablo	<ul style="list-style-type: none">• Tipik pnömoni• Atipik pnömoni
Ağırılık durumu	<ul style="list-style-type: none">• Hafif pnömoniler• Ağır pnömoniler
Ampirik tedavi yaklaşımı	<ul style="list-style-type: none">• Toplum kökenli pnömoniler (TKP)• Hastane kökenli pnömoniler (HKP)• Sağlık bakımı ilişkili pnömoni (SBİP)• Ventilatör ilişkili pnömoni (VİP)• İmmün sistemi baskılanmış hastada pnömoni• Aspirasyon pnömonisi

Toplum Kökenli Pnömoni

- ❑ Kişide günlük yaşamı sırasında ortaya çıkan pnömoni
- ❖ Ülkemizde tüm medikal ve non-medikal kişilerde birinci, enfeksiyöz ve sepsis kaynaklı ölümlerde birinci
- ❖ Tüm ölümler arasında altıncı, enfeksiyon bağlı ölümlerde birinci
- ❖ Mortalite %1-60
- ❖ %38 65 yaş üstü kişilerde
- ❖ Tüm hastane yatışlarının %1.9'u
- ❖ Mortalite %1-30
- ❖ Sepsisin en yaygın görülen enfeksiyöz nedeni

Toplum Kökenli Pnömoni-Etyoloji

Table 1 Characteristics of studies reporting the etiology of community acquired pneumonia (CAP)

From: [Etiology of community-acquired pneumonia in adults: a systematic review](#)

Nature of the microbiologic studies	Bacteria only	Bacteria & 'atypicals' ^a	Bacteria, 'atypicals' & viruses	Modern Studies: Bacteria and:		
				PCR for 'atypicals'	PCR for viruses	PCR for 'atypicals' and viruses
Number of studies	25	37	46	16	10	12
Publication years	1945–2010	1984–2020	1967–2017	1999–2020	2008–2019	2005–2019
Study setting						
Inpatient only	8653	14,281	23,555	6790	6260	4399
Inpatient/outpatient	118	3786	3512	1069	5295	2752
Outpatient only	610	1368	226	0	0	0
Number of CAP patients	9381	19,435	27,293	7859	11,555	7151
Specifies antibiotic exposure prior to microbiologic testing	687 (7.3%)	3104 (16%)	4203 (15.4%)	1074 (13.7%)	2085 (18%)	966 (13.5%)
Number of patients with no etiology determined	6293 (67.1%)	11,663 (60.0%)	13,704 (50.2%)	4484 (57.1%)	5823 (50.4%)	4380 (61.3%)

^a "Atypicals" is a term used loosely in publications to refer to *Mycoplasma*, *Chlamydothila*, *Legionella* and/or *Coxiella*

Toplum Kökenli Pnömoni-Etyoloji

Table 2 Frequency of causative pathogens in CAP, stratified based on microbiologic techniques^a

From: [Etiology of community-acquired pneumonia in adults: a systematic review](#)

Studies were deigned to recognize:	Bacteria only	Bacteria & 'atypicals' ^b	Bacteria, 'atypicals' & viruses	Modern Studies: Bacteria and:		
				PCR for 'atypicals'	PCR for viruses	PCR 'atypicals' & viruses
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	49.6	44.9	40.7	47.6	37.1	33.0
<i>Haemophilus influenzae</i>	13.8	14.0	9.7	15.6	7.2	8.6
<i>Haemophilus</i> (other)	3.3	3.8	0.2	3.1	0.1	0.1
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1.7	2.0	1.2	3.5	2.2	2.4
<i>Staphylococcus aureus</i>	9.1	4.8	3.7	5.9	4.7	3.9
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0.3	0.3	0.3	0.2	0	0.4
<i>Streptococcus</i> (other)	2.1	1.2	1.2	0.3	0.1	0.7
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.3	0.04	0.1	0	0.02	0.0
<i>Klebsiella</i>	4.5	2.1	1.3	2.3	1.6	0.7
<i>Enterobacter</i>	0.4	0.4	0.2	0.2	0	0.0
<i>Enterobacteriaceae</i> (other)	4.8	4.1	2.6	2.0	2.8	2.7
<i>Pseudomonas</i>	2.4	2.2	2.9	1.9	4.5	0.8
Gram negative rods (other or unspecified)	3.0	2.3	3.3	1.8	0.5	1.8
Anaerobic bacteria	0.5	0.05	0.4	0.1	0	0.1
Other bacteria ^c	1.5	3.7	1.1	6.2	5.7	0.3

Studies were deigned to recognize:	Bacteria only	Bacteria & 'atypicals' ^b	Bacteria, 'atypicals' & viruses	Modern Studies: Bacteria and:		
				PCR for 'atypicals'	PCR for viruses	PCR 'atypicals' & viruses
<i>Mycobacteria</i>	-- ^d	0.5	1.04	0.3	0.03	1.8
<i>Pneumocystis</i>	–	0.3	1.1	1.2	0.1	0.2
Other fungi	–	0.01	0.3	0.1	0.02	0
<i>Nocardia</i>	–	0.03	0.05	0.03	0.03	0.04
Unspecified atypicals	–	0.5	0.4	0.0	0	0
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	–	8.8	10.0	10.5	3.7	8.9
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	–	6.9	5.7	4.9	1.4	2.9
<i>Chlamydomphila</i> (other)	–	0.3	1.04	0.4	0.2	0.2
<i>Legionella</i>	–	8.3	6.5	6.6	3.3	6.2
<i>Coxiella</i>	–	0.3	1.8	0.6	0.5	0.3
Influenza A virus	–	–	2.4	0.1	4.7	3.4
Influenza B	–	–	0.8	0.0	0.3	1.1
Influenza A or B	–	–	1.3	0.3	1.2	9.2
Parainfluenza virus	–	–	1.0	–	0.8	4.6
Respiratory syncytial virus	–	–	0.8	–	1.5	4.7
Rhinovirus	–	–	0.04	–	4.1	11.5
Human metapneumovirus	–	–	0	–	0.4	4.1
Coronavirus	–	–	0	–	0.3	3.2
Bocavirus	–	–	0	–	0	0.04
Herpes simplex virus	–	0.01	0.3	–	0	0.1
Cytomegalovirus	–	–	0.1	–	0.02	0
Adenovirus	–	–	0.5	–	0.3	2.2
Varicella	–	0.03	0.2	–	0	0
Virus (unspecified or other)	1.04	0.03	1.8	0.1	9.6	0.6
Bacterial/viral coinfection	1.9	1.9	6.1	2.6	9.7	5.9

Toplum Kökenli Pnömoni-Türkiye

❖ Köksal ve ark. (2010)

• *S. pneumoniae* (%14.7)

• *M. pneumoniae* (%13.8)

• *Respiratory syncytial virüs* (%10.1)

• Olguların %50.9'unda tek patojen,

%11.9'unda ise çoklu patojen

• %35.8 tipik, %20.2 atipik ve %20.6

viral patojenler

❑ Ölüm nedenleri arasında dördüncü sırada

❖ Kurutepe ve ark. (2012)

• *S. pneumoniae* (%25)

• *H. Influenzae* (%7)

• *M. pneumoniae* (%7)

• Gram-negatif basil (%7.8)

• *M. catarrhalis* (%4.7)

• *S. pneumoniae* (%3.2)

• *L. pneumophila* (%1.6)

• *S. aureus* (%1.4)

• Atipik patojenler %11.7; miks enfeksiyonlar

ise %10.9

• PCR yöntemi ile etken izolasyon %41.4,

konvansiyonel yollarla (direkt bakı,

kültür vb.) ise %23.4

❑ Ülkemizde TKP olgularında etiyolojik ajan

izolasyonu oranları %21-77.8

❑ Ancak rutin laboratuvar şartlarında yani sadece

standart bakteriyolojik yöntemlerin kullanılması

durumunda %21-32.4

Sendromik Yaklaşım

- **Sendrom:** birbirleriyle ilişkisiz gibi görünen, ancak bir araya geldiklerinde tek bir olgu olarak kendilerini gösteren bulguların bütünü
- **Sendromik tanı yaklaşımı:** Benzer belirti ve bulguları ortaya çıkartan bir çok hastalık etkenini eş zamanlı olarak araştırmak

Tanı-Konvansiyonel Mikrobiyolojik

- Kan ve plevra kültürü
 - ☹ Yanlış negatiflik
 - ☹ Uzun sonuç verme süresi
- Torakasentez
 - ☹ İnvaziv
- Balgam-Boyama/Kültür
 - ☹ Örnek alımı (antibiyotik öncesi)
 - ☹ Örnek kalitesi

Tanı-Konvansiyonel Mikrobiyolojik

□ Antijen/antikor tespiti

- Yatarak tedavi gören hastalar
- **Pnömonokok**; duyarlılık %50-80, özgüllük %70-90
- ***Legionella* serogrup 1 tespiti**; duyarlılık %70-90, özgüllük %99
-

Tanı-İmmunolojik Biyobelirteçler

- Doğru antibiyotik seçimi ve tedavi yanıtı
 - IL-6, IL-8, IL-10, C-reaktif protein
 - Lipopolisakkarit-binding protein, soluble triggering res., soluble prolinaz-tip plazminojen aktivatör res.
 - **Procalsitonin (PCR)**

Tanı-Konvansiyonel Test Yöntemleri

- Hasta öyküsü, FM, mikrobiyolojik tanı
- Ciddi TKP
 - Kan kültürü
 - Balgam kültürü ve boyama
 - Üriner antijen testi
 - İnfluenza

Tanı-Konvansiyonel Test Yöntemleri

COMMUNITY ACQUIRED PNEUMONIA

IDSA/ATS 2019 Guidelines

DIAGNOSIS	Blood cultures	Do NOT obtain if managed as outpatient or routinely in inpatients.	Obtain if inpatient and severe PNA or risk factors for MRSA/pseudomonas (empirically treated, history of prior MRSA/pseudomonas infection, or hospitalized w/IV antibiotics in past 90 days.
	Sputum culture	Do NOT obtain if managed as outpatient.	Obtain if inpatient and severe PNA or risk factors for MRSA/pseudomonas (empirically treated, history of prior MRSA/pseudomonas infection, or hospitalized w/IV antibiotics in past 90 days.
	Procalcitonin	Recommend that empiric antibiotic therapy should be initiated in adults with clinically suspected and radiographically confirmed CAP regardless of initial serum procalcitonin level (strong recommendation, moderate quality evidence ⁰)	
	Legionella & Pneumococcal Urinary Antigen	Suggest not routinely testing in patients with CAP unless indicated by epidemiological factors (associated with outbreak or travel) or severe CAP	
	Influenza	Test for influenza if it's circulating	

Tanı-Konvansiyonel Test Yöntemleri

- Düşük performans
- Sonuç verme zamanında gecikme (turn around time)
- Antibiyotik kullanımı

Tanı-Moleküler/Sendromik Yaklaşım

- Hızlı
- Kesin sonuç
- Antibiyotik duyarlılık
- Tedavi yanıtı??*

Solunum Yolu Patojenlerinin Multipleks Tespiti

- FDA onaylı; >5 ve üzeri patojen tespiti yapabilen yedi panel mevcut
 - **Luminex xTAG RVP v1** (Luminex Corporation)
 - **Luminex xTAG RVP Fast** (Luminex Corporation)
 - **FilmArray respiratory panel** (FA-RP) (BioFire Diagnostics)
 - **eSensor RVP** (GenMark Diagnostics)
 - **Verigene Respiratory Pathogens Flex test** (Luminex Corporation)
 - **Luminex xTAG respiratory pathogen panel** (NxTAG-RPP) (Luminex Corporation)
 - **ePlex respiratory pathogen panel** (ePlex RPP) (GenMark Diagnostics)

Luminex xTAG RVP v1

Tespit yöntemi: Floresan-işaretli Bead Array

Tespit edilen viruslar: Adenovirus;
Influenza A (H1, H3); Influenza B; Human
Metapneumovirus; Parainfluenza virus 1, 2,
3; RSV (A/B); Rhinovirus/enterovirus

Duyarlılık: 91.2%

Özgüllük: 99.7%

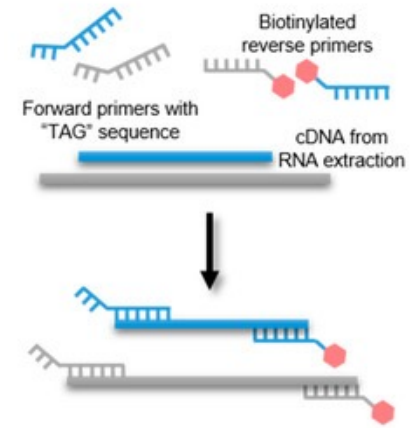
Manuel çalışma süresi: 1.2 saat

Sonuç verme süresi: 7.8 saat

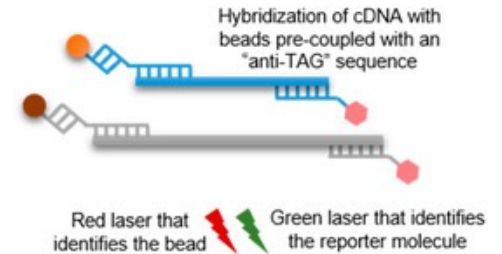
8 saatlik sürede cihazda çalışılan örnek sayısı: 21

Luminex xTAG assay

PCR amplification



Luminex assay



Luminex xTAG

□ Floresan işaretli bead (boncuk) array yöntemi

- Örnek hazırlama aşaması (**45 dak.**)
- Ekstraksiyon (**45 dak.**)
- Multiplex reverse transkripsiyon
- PCR amplifikasyon
- Spesifik amplifiye hedeflere floresans bead hibridizasyonu
- Magpix ya da Luminex 100/200 ile analiz (**10 dak.**)

**2,5
saat**

□ Açık-amplifikasyon platformu; transfer gereksinimi

Luminex xTAG RVP v1

Virus	% Sensitivity
Adenovirus	74.3
Influenza A	100
Influenza A H1/09	100
Influenza A H3	92.9
Influenza B	95.5
Human Metapneumovirus	100
Parainfluenza virus 1	100
Parainfluenza virus 2	100
Parainfluenza virus 3	100
Respiratory syncytial virus A	86.4
Respiratory syncytial virus B	92.9
Rhinovirus/Enterovirus	93.0

Luminex xTAG RVPv1

TABLE 11. Sensitivity and Specificity of RVP in Prospectively Collected Specimens (n=544)

Virus (Analyte)	Sensitivity		95%CI for Sensitivity	Specificity		95% CI for Specificity
	TP / (TP+FN)	percent		TN/ (TN+FP)	percent	
Human Influenza A	81/84	96.4%	89.9% - 99.3%	441/460	95.9%	93.6% - 97.5%
H1 subtype of Flu A*	6/6	100%	54.1% - 100%	532/532	100%	99.3% - 100%
H3 subtype of Flu A	66/72	91.7%	82.7% - 96.9%	463/469	98.7%	97.2% - 99.5%
Human Influenza B	54/59	91.5%	81.3% - 97.2%	469/485	96.7%	94.7% - 98.1%
RSV A	23/23	100%	85.2% - 100%	501/509	98.4%	96.9% - 99.3%
RSV B	33/33	100%	89.4% - 100%	492/505	97.4%	95.6% - 98.6%
Parainfluenza 1	3/3	100%	29.2% - 100%	540/541	99.8%	99.0% - 100%
Parainfluenza 2	6/6	100%	54.1% - 100%	537/538	99.8%	99.0% - 100%
Parainfluenza 3	16/19	84.2%	60.4% - 96.6%	523/525	99.6%	98.6% - 100%
Rhinovirus	42/42	100%	91.6% - 100%	168/184	91.3%	86.3% - 95.0%
Adenovirus**	18/23	78.3%	56.3% - 92.5%	520/520	100%	99.3% - 100%
Metapneumovirus†	24/25	96%	79.7% - 99.9%	320/324	98.8%	96.9% - 99.7%

Luminex xTAG RVP Fast

Tespit yöntemi: Floresan-işaretli Bead Array

Tespit edilen viruslar: Adenovirus; Influenza A (H1, H3);
Influenza B; Human metapneumovirus; RSV;
Rhinovirus/enterovirus

Duyarlılık: %78.8

Özgüllük: %99.6

Manuel çalışma süresi:45 dakika

Sonuç verme süresi: 4.8 saat

8 saatlik sürede cihazda çalışılan örnek sayısı: 21

Luminex xTAG RVP Fast

Virus	% Sensitivity
Adenovirus	82.9
Influenza A	86.7
Influenza A H1/09	81.3
Influenza A H3	78.6
Influenza B	45.5
Human Metapneumovirus	100
Parainfluenza virus 1	N/A
Parainfluenza virus 2	N/A
Parainfluenza virus 3	N/A
Respiratory syncytial virus A	86.4
Respiratory syncytial virus B	85.7
Rhinovirus/Enterovirus	93.0

Artılar;

- Hızlı sonuç verme süresi
- Yüksek verimlilik

Eksiler;

- Parainfluenza yok
- Düşük duyarlılık

FilmArray respiratory panel (FA-RP)

Tespit yöntemi: Melting Curve Analiz

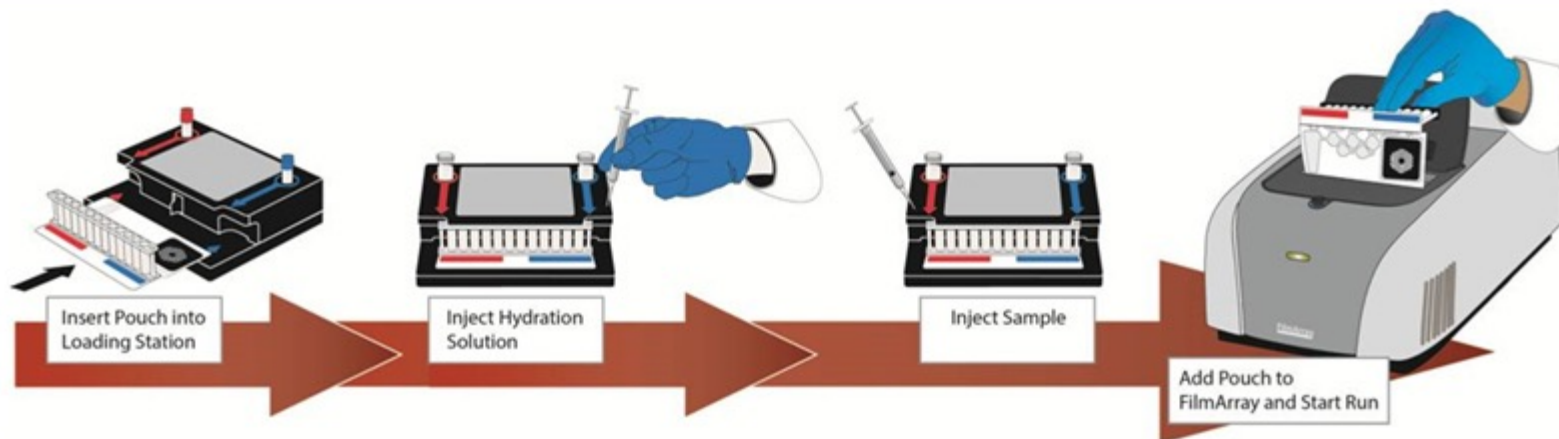
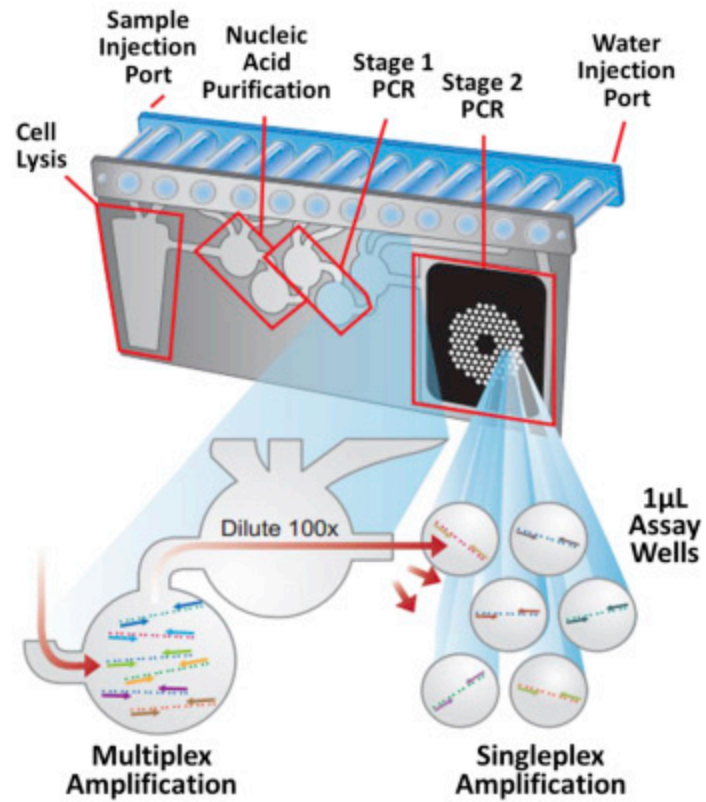
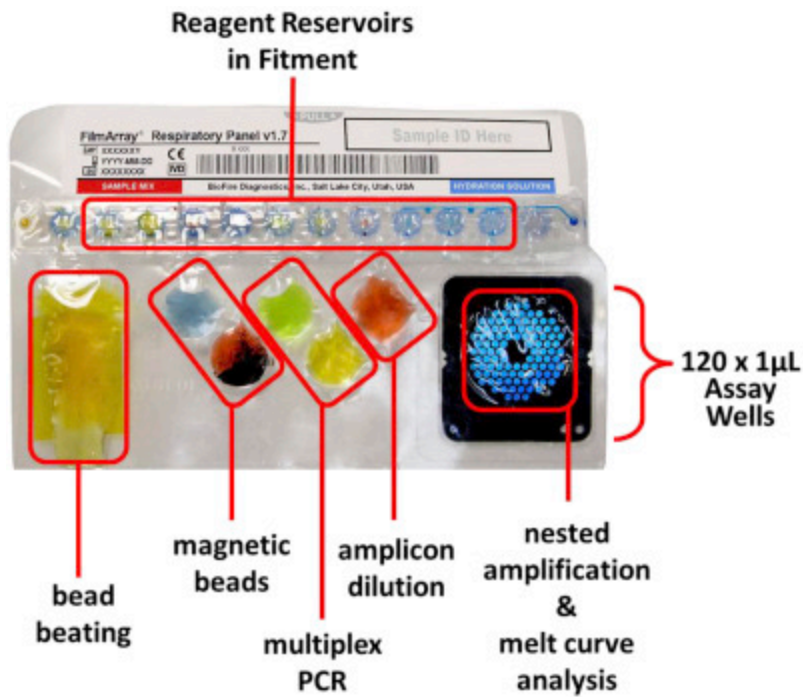
Tespit edilen viruslar: Adenovirus; Coronavirus HKU1, NL63; Influenza A (H1/2009, H1, H3); Influenza B; Human metapneumovirus; Parainfluenza virus 1, 2, 3, 4; RSV; Rhinovirus/enterovirus

Duyarlılık: %89.4

Özgüllük: %99.6

Manuel çalışma süresi: 3 dakika

Sonuç verme süresi: 1.2 saat



FilmArray respiratory panel (FA-RP)

Virus	% Sensitivity
Adenovirus	57.1
Influenza A	86.2
Influenza A H1/09	73.3
Influenza A H3	100
Influenza B	77.3
Human Metapneumovirus	96.2
Parainfluenza virus 1	100
Parainfluenza virus 2	92.3
Parainfluenza virus 3	100
Respiratory syncytial virus A	86.4
Respiratory syncytial virus B	100
Rhinovirus/Enterovirus	83.7

Artılar;

- Hızlı sonuç verme süresi
- Yüksek özgüllük
- FDA-onaylı genişletilmiş panel
 - *Chlamidya pneumoniae*
 - *Mycoplasma pneumoniae*
 - *Bordetella pertusis*

Eksiler;

- Her seferinde 1 örnek çalışabilme

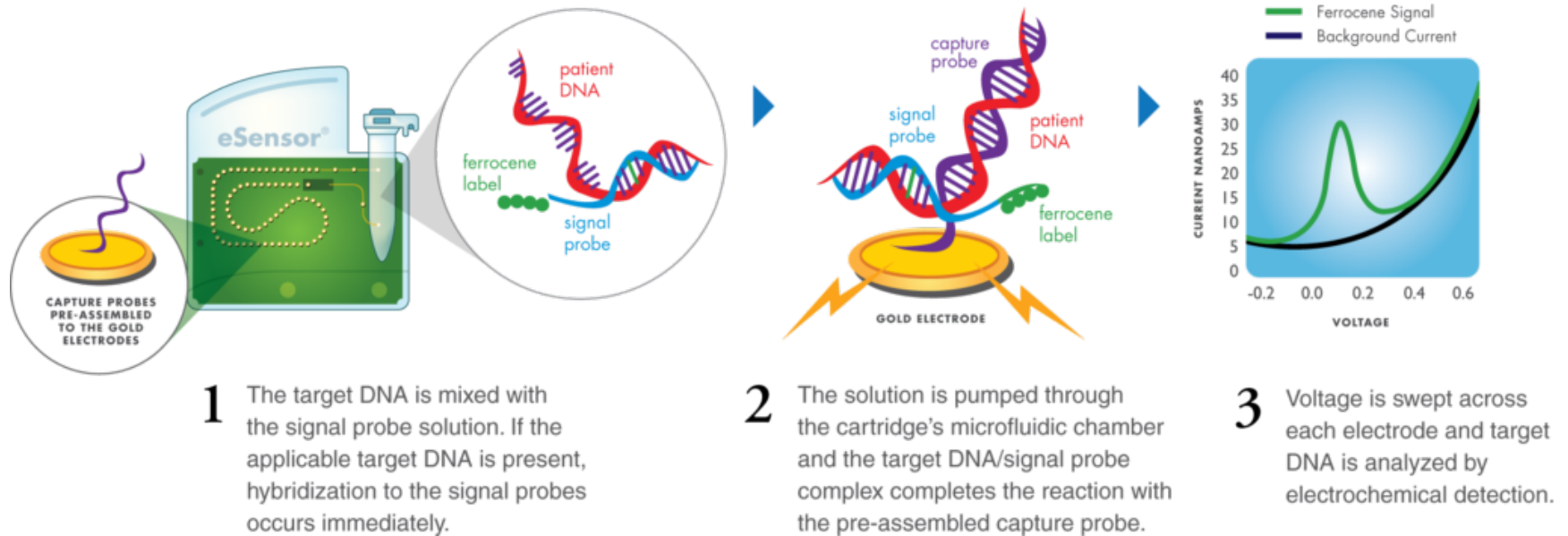
Clinical Sensitivity and Specificity of the FilmArray Respiratory Pouch

Pathogens	Sensitivity		Specificity
	Prospective	Retrospective	Prospective
Adenovirus	88.9%	100%	98.3%
Coronavirus HKU1	95.8%	n/a	99.8%
Coronavirus NL63	95.8%	n/a	100%
Coronavirus 229E	100%	100%	99.80%
Coronavirus OC43	100%	100%	99.60%
Human Metapneumovirus	94.6%	n/a	99.2%
Human Rhinovirus/Enterovirus	92.7%	95.7%	94.6%
Influenza A	90.0%	n/a	99.8%
Influenza A/H1	n/a	100%	100%
Influenza A/H3	n/a	100%	100%
Influenza A/H1-2009	88.9%*	100%	99.6%
Influenza B	n/a	100%	100%
Parainfluenza Virus 1	100%*	97.1%	99.9%
Parainfluenza Virus 2	87.4%*	100%	99.8%
Parainfluenza Virus 3	95.8%	100%	98.8%
Parainfluenza Virus 4	100%*	100%	99.9%
Respiratory Syncytial Virus	100%	n/a	89.1%
<i>Bordetella pertussis</i>	100%*	94.6%	99.90%
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	100%*	100%†	100%
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100%*	84.4%	100%

†Spiked *Chlamydomphila pneumoniae* samples were used to test retrospective sensitivity.

*Due to low prevalence in the prospective study, clinical sensitivity for these pathogens was based on less than 10 positive samples.

eSensor RVP



eSensor RVP

Tespit yöntemi: Mikroarray hibridizasyon ve solid-faz elektrokimyasal analiz (voltametrik)

Tespit edilen viruslar: Adenovirus (C, B/E); Influenza A (H1/2009, H1, H3); Influenza B; Human Metapneumovirus; Parainfluenza viruses 1, 2, 3; RSV (A, B); Human Rhinovirus

Duyarlılık: % 95.4

Özgüllük: % 99.7

Manuel çalışma süresi: 1 saat

Sonuç verme süresi: 7.2 saat

8 saatlik sürede cihazda çalışılan örnek sayısı: 21

eSensor RVP

Virus	% Sensitivity
Adenovirus	100
Influenza A	100
Influenza A H1/09	100
Influenza A H3	100
Influenza B	100
Human Metapneumovirus	100
Parainfluenza virus 1	100
Parainfluenza virus 2	100
Parainfluenza virus 3	100
Respiratory syncytial virus A	100
Respiratory syncytial virus B	100
Rhinovirus	90.7

Artılar;

- Yüksek duyarlılık
- Adenovirus türlerini raporlayabilme (C vs. B/E)

Eksiler;

- Enterovirus yok
- Uzun sonuç verme süresi
> 7 saat

ePlex Respiratory Pathogen Panel

Tespit yöntemi: Eletrowetting (elektro-ıslatma)

Tespit edilen etkenler: Adenovirus, Coronavirus 229E, Coronavirus HKU1, Coronavirus NL63, Coronavirus OC43, SARS-COV-2, MERS-CoV, Human Bocavirus, Human Metapneumovirus, Human Rhinovirus/Enterovirus, Influenza A, Influenza A H1, Influenza A H1-2009, Influenza A H3, Influenza B, Parainfluenza 1-4, Respiratory Syncytial Virus A-B, Bordetella pertussis, Legionella pneumophila, Mycoplasma pneumoniae

Duyarlılık:

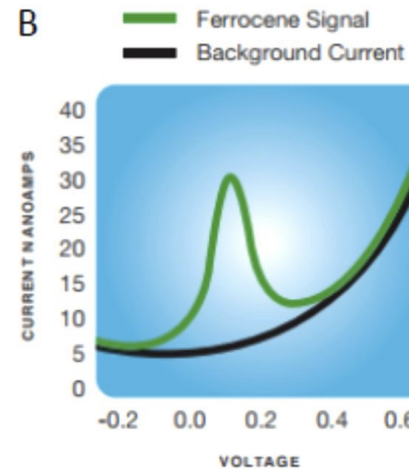
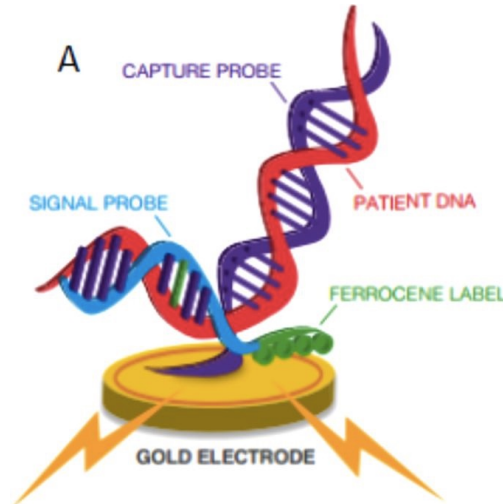
Özgüllük:

Manuel çalışma süresi: 2 dakika

Sonuç verme süresi: 1.5 saat

8 saatlik sürede cihazda çalışılan örnek sayısı:

ePlex Respiratory Pathogen Panel



Dispense sample



Scan barcode



Insert cartridge



Start Run

Verigene Respiratory Pathogens Flex test

Tespit Yöntemi: Mikroarray (gold nanoparticle probe-based technology)

Sonuç verme süresi: 2-3 saat

Tespit edilen etkenler: Adenovirus; Influenza A (H1, H3); Influenza B; Human Metapneumovirus; Parainfluenza virus 1, 2, 3; RSV (A/B); Rhinovirus/enterovirus, *Bordetella pertusis*, *Bordetella parapertusis*-*Bordetella bronchiseptica*, *Bordetella holmesii*.

Teste başlamadan önce hedef etken seçim/tercih imkanı

Luminex NxTAG respiratory pathogen panel (NxTAG-RPP)

- NxTAG RPP aynı anda 96'lık setlerde toplam 20 hedef etken
- **Sonuç verme süresi:** 4 saat
- **Luminex magpix platformu;** ekstrakte nükleik asit alikotu, liyofilize reaktiflerle eklenir, tek siklуста multiplex PCR (RT-PCR)/bead hibridizasyon, kapalı sistem. PCR sonrası örnek işleme yok

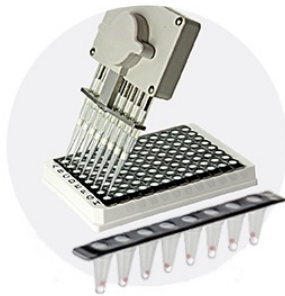
NxTAG[®] Respiratory Pathogen Panel Targets

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

<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Legionella pneumophila</i> [†]
---------------------------------	------------------------------	--



Step 1

Add 1–96 extracted samples to pre-plated test wells.



Step 2

Integrated multiplex PCR and bead hybridization.



Step 3

Read on the NxTAG[®]-Enabled MAGPIX[®] System.

Parameter	FilmArray	Verigene	x-TAG RVP	x-TAG RVP Fast	NxTAG-RPP	eSensor RVP	ePlex
Analysis platform	FilmArray system or FilmArray Torch	Verigene system	Luminex 100/200	Luminex 100/200	Luminex Magpix	eSensor	ePlex system
No. of targets	20	16	12	8	20	14	17
Ability to detect pathogen							
Viruses							
Adenovirus	✓	✓	✓	✓	✓	✓ (differentiates subgroup B/E from C)	✓
Coronavirus							✓
Coronavirus HKU1	✓				✓		
Coronavirus NL63	✓				✓		
Coronavirus 229E	✓				✓		
Coronavirus OC43	✓				✓		
Human bocavirus					✓		
Human metapneumovirus	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Influenza A virus	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Subtype H1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Subtype H3	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Subtype 2009 H1N1	✓				✓	✓	✓
Influenza B virus	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Parainfluenza virus 1	✓	✓	✓		✓	✓	✓
Parainfluenza virus 2	✓	✓	✓		✓	✓	✓
Parainfluenza virus 3	✓	✓	✓		✓	✓	✓
Parainfluenza virus 4	✓	✓			✓		✓
Respiratory syncytial virus	✓			✓			
Respiratory syncytial virus A		✓	✓		✓	✓	✓
Respiratory syncytial virus B		✓	✓		✓	✓	✓
Rhinovirus/enterovirus	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Bacteria							
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	✓				✓		✓
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	✓				✓		✓
<i>Bordetella pertussis</i>	✓	✓					
<i>Bordetella parapertussis</i> - <i>Bordetella bronchiseptica</i>		✓					
<i>Bordetella holmesii</i>		✓					
Time to result (h)	~1	~2-3	~8	~6	~4	~6	~1.5

•The acceptable specimen type for all panels is a nasopharyngeal swab. RVP, respiratory virus panel; RPP, respiratory pathogen panel.

Türkiye ve Test Platformları



Bio-Speedy®

**SOLUNUM YOLU
RT-qPCR MX-24T PANELİ**

CE IVD

ÖRNEK TİPİ :
Nazofaringeal Sürüntü,
Orofaringeal Sürüntü,
Bronkoalveolar Lavaj,
Nazofaringeal
Aspirat, Balgam
Örnekleri

- Solunum yolu enfeksiyonları dünya çapında yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkilendirilmiştir ve belirtileri belli bir etkeni işaret edemeyebilir.
- Biospeedy® Solunum Yolu RT-qPCR MX-24T paneli** ile enfeksiyon etkenlerinin **hızlı ve doğru** tanısı.
- Tek bir strip'te **SARS-CoV-2 dahil 19 viral ve 6 bakteriyel** etkenin multipleks tespiti.
- Solunum yolu enfeksiyonlarında hızlı ve doğru tanı, erken ve etkin tedaviye yönlendirir. **Erken ve etkin tedavi hayatı kurtarır, hastanede yatış süresini kısaltır, gereksiz ilaç kullanımını engeller.** Kaynakların en verimli şekilde kullanılmasını sağlar.

VİRAL ETKENLER

SARS-CoV-2
Influenza A
Influenza B
İnsan Koronavirüsü 229E
İnsan Koronavirüsü OC43
İnsan Koronavirüsü NL63
İnsan Koronavirüsü HKU1
Parainfluenza 1
Parainfluenza 2
Parainfluenza 3
Parainfluenza 4
Metapnömovirüs (MPV)
Respiratuar Sinsiyal Virüs (RSV) A/B
Enterovirüs (HEV)
Adenovirüs (AV)
İnsan Bokavirüsü (HBoV)
İnsan Papillomavirüsü (HPV)
Rhinovirüs (HRV)

BAKTERİYEL ETKENLER

<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Bordetella pertussis</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>

Tespiti Edilen / Belirlenen*	Bloksan Sonuçları (%)	Toplam Laboratuvar Sonuçları (%)
Koronavirüs - OC43	100	89,6
Enterovirüs D6B	92,6	85,4
Adenovirüs tip 1	100	95,8
Metapnömovirüs tip A2	100	93,8
Parainfluenza virüs tip 1	100	96,5
Koronavirüs - NL63	100	92,4
Metapnömovirüs tip A1	100	92,4
<i>Legionella pneumophila</i> sglT (ST 47)	100	94,6
<i>Haemophilus influenzae</i>	100	96,7
<i>Legionella pneumophila</i> sglT (ST 62)	100	95,7
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	100	80,2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100	93,5
<i>Bordetella pertussis</i>	96,2	95,7
Negatif	100	97,8

*QCMD 2020 Respiratory II & III EDA Programı kapsamında elde edilen sonuçlardan derlenmiştir.

ÜRÜN	ÜRÜN BOYUTU	KATALOG NO
SOLUNUM YOLU RT-qPCR MX-24T PANEL	100 test	BS-SY-MX24T-100
SOLUNUM YOLU RT-qPCR MX-24S PANEL	100 test	BS-SY-MX24S-100

LOD: 10-100 kopya/ml
Duyarlılık > %98,95
Özgüllük > %99,13



Impact of Early Detection of Respiratory Viruses by Multiplex PCR Assay on Clinical Outcomes in Adult Patients

Urania Rappo,^{a*} Audrey N. Schuetz,^{b,c*} Stephen G. Jenkins,^{b,c} David P. Calfee,^b Thomas J. Walsh,^{b,d} Martin T. Wells,^e James P. Hollenberg,^a Marshall J. Glesby^b

Department of Medicine, Division of Clinical Epidemiology and Evaluative Sciences Research,^a Department of Medicine, Division of Infectious Diseases,^b Department of Pathology and Laboratory Medicine,^c and Departments of Pediatrics and Microbiology & Immunology,^d Weill Cornell Medicine, New York, New York, USA; Department of Statistical Science, Cornell University, Ithaca, New York, USA^e

- İki influenza sezonu karşılaştırılmış
 - İlkinde konvansiyonel tanı (viral kültür, hızlı antijen

Outcome	Patients positive for influenza virus (<i>n</i> = 212)				Patients positive for non-influenza viruses (<i>n</i> = 125)			
	Unadjusted coefficient (95% CI)	<i>P</i> value	Adjusted coefficient (95% CI)	<i>P</i> value	Unadjusted coefficient (95% CI)	<i>P</i> value	Adjusted Coefficient (95% CI)	<i>P</i> value
Length of stay	-0.12 (-0.62, 0.37)	0.63	-0.37 (-0.73, -0.018)	0.040	-0.57 (-1.11, -0.016)	0.044	-0.091 (-0.52, 0.34)	0.68
Duration of antimicrobial use ^b	-0.61 (-1.28, 0.061)	0.074	-0.68 (-1.29, -0.060)	0.032	-0.091 (-0.69, 0.51)	0.76	0.12 (-0.43, 0.67)	0.66
No. of chest radiographs ^c	-0.43 (-0.80, -0.067)	0.020	-0.42 (-0.72, -0.13)	0.005	-0.32 (-0.78, 0.13)	0.16	0.022 (-0.33, 0.38)	0.90
Time to anti-influenza treatment ^d	-0.18 (-0.69, -0.33)	0.48	-0.20 (-0.65, 0.25)	0.37	NA ^e			

- Non-influenza için 1.5 s vs. 13.5 s



Impact of Multiplex Polymerase Chain Reaction Testing for Respiratory Pathogens on Healthcare Resource Utilization for Pediatric Inpatients

Anupama Subramony, MD, MBA^{1,*}, Philip Zachariah, MD, MS^{2,3,*}, Ariella Kronos, MD⁴, Susan Whittier, PhD^{2,3},
and Lisa Saiman, MD, MPH^{2,3}

- Prospektif, pre/postintervention, multiplex PCR etkisi, pediatrik yatan hasta
 - Önce EIA, direkt floresans antikor, PCR (FA-RP dışı), viral kültür
 - Sonra FA-RP
 - FA-RP ile %42 pozitiflik; konvansiyonel %14
 - FA-RP'de ≥ 2 gün antibiyotik kullanımı ve yatışla birlikte radyografi olasılık oranı daha düşük, ≥ 2 gün izolasyonda kalma olasılık oranı ise daha yüksek

Impact of a Rapid Respiratory Panel Test on Patient Outcomes

Beverly B. Rogers, MD; Prabhu Shankar, MD; Robert C. Jerris, PhD; David Kotzbauer, MD; Evan J. Anderson, MD; J. Renee Watson, BSM; Lauren A. O'Brien, PhD; Francine Uwindatwa, MS, MBA; Kelly McNamara, BSBA; James E. Bost, PhD

- **Prospektif, pre/postintervention, multiplex PCR etkisi, pediatrik yatan hasta**
 - Daha kısa antibiyotik kullanım süresi (NP örnek; influenza virus, RSV, parainfluenza 1-3)
 - FA-RP pozitif çocuklarda hastanede kalış süresi ve izolasyonda kalma süresi azalmış

**Routine molecular point-of-care testing for respiratory viruses
in adults presenting to hospital with acute respiratory illness
(ResPOC): a pragmatic, open-label, randomised controlled trial**



Nathan J Brendish, Ahalya K Malachira, Lawrence Armstrong, Rebecca Houghton, Sandra Aitken, Esther Nyimbili, Sean Ewings, Patrick J Lillie, Tristan W Clark

- Tek-merkezli, kontrollü-randomize, yetişkin, akut solunum yolu hastalığı olan kişiler
 - FA-RP ve konvansiyonel PCR;
 - Antibiyotikle tedavi edilen hasta sayısı ve ortalama antibiyotik kullanım süresi arasında fark yok
 - FA-RP grupta hastanede kalma süresi daha kısa (5.7 g vs. 6.8 g); influenza pozitif hastalarda antiviral kullanımı daha yüksek (%91 vs.%65)

Hep mi iyiyiz...

- İsteklerin düzenlenmesi, uyarlanması
 - **Verigene RP Flex panel** ve Luminex XTAG hariç müdahale edilemiyor
- Bazı patojenler için duyarlılık istenen seviyenin altında
 - Adenovirus (%57), influenza A virus H1/2009 (%73), influenza B virus (%77)
 - Toplumda etkenin görülme sıklığı testin prediktif değerini etkileyecektir!

Kısıtlılıklar

□ Koenfeksiyon oranı %10

□ RhV/EV birlikteliği sık

TABLE 3 Combinations of multiple viruses identified during the study and how many instances were detected by each assay

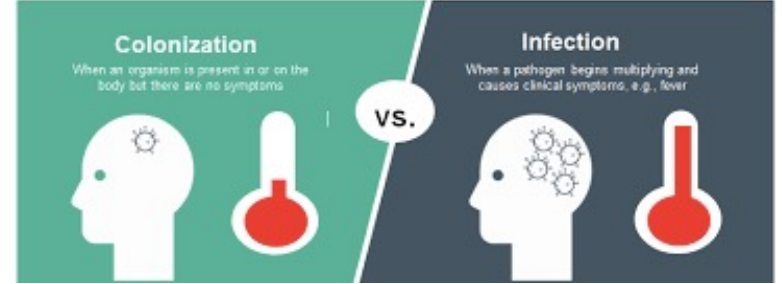
Viral combination ^b	No. of coinfections detected by:				No. of true-positive results
	FilmArray RP	eSensor RVP	xTAG		
			RVPv1	RVP fast	
AdV + InfA H1/2009	0	1	0	0	1
AdV + MPV	0	1	0	1	1
AdV + PIV2	1	1	1	NA ^a	1
AdV + RhV/EV	4	6	5	5	6
AdV + RSV A	1	4	2	3	4
InfA H1/2009 + RhV/EV	1	1	1	1	1
InfA H1/2009 + RSV B	1	2	2	2	2
MPV + RhV/EV	1	1	1	1	1
PIV1 + RhV/EV	2	1	1	NA	2
PIV2 + RhV/EV	2	4	3	NA	4
PIV3 + RhV/EV	0	1	0	NA	1
RSV A + RhV/EV	5	5	5	4	5
RSV B + RhV/EV	1	1	1	0	1
AdV + MPV + RSV A	0	1	0	0	1
Total	19	30	22	17	31

^a NA, not applicable.

^b InfA, influenza virus A.

Kısıtlılıklar

- Kolonizasyon, aktif enfeksiyon ayrımı?
- Bakteri ya da mantar koenfeksiyonu
- Nazofarengeal örnek alımı zor, kritik hastalarda ciddi alt solunum yolu enf atlanabilir; BAL örneklemesi gerekebilir
- CMV, MERS-CoV, SARS-CoV, hantavirus yok



Avantajlar

- Viral patojen doğrulandığında antibiyotik kullanımı azalmakta
- İnvaziv örnek alım prosedürlerine ihtiyaç azalmakta
- Enfeksiyon kontrol parametrelerini uygulamak ve salgında harekete geçmek kolaylaşıyor (EV D68 salgını, 2014)

Avantajlar

- Viral solunum yolu enfeksiyonu tanısı koymak tek başına çoğu zaman yeterli
- Tanıyla beraber ek işlem ihtiyacı ortadan kalkmakta
- *Mycoplasma pneumoniae* enfeksiyonu beklenmedik şekilde yüksek bulunmuş **%75**

Epidemiyolojik Analiz ve Multipleks Paneller

Epidemiol. Infect. (2016), **144**, 2064–2076. © Cambridge University Press 2016
doi:10.1017/S0950268816000339

Extensive multiplex PCR diagnostics reveal new insights into the epidemiology of viral respiratory infections

- 44320 solunum yolu enfeksiyonu olan hasta
- Coronovirus enfeksiyon sıklığı, influenza sezonunda, sanılandan daha fazla

İmmünoompromize hastalar ve panel testler

- Geniş panelli test kullanımını avantaj ama...

Kliniđe neden olmadan mikorg.'nın ya da nükleik asitin uzamış sağılımı; klinik ön planda olmalı

- Test panelleri genişletilebilir

Panel test kullanırken...

- ❑ Yanlış pozitif sonuçlar/kontaminasyon
 - Açık sistem/manipülasyon
 - Örnek alımı esnasında kontaminasyon
 - Laboratuvar (moleküler tanı) dışı çalışma

Table 1. US Food and Drug Administration–Approved Syndromic Panels for Multiple Pathogen Detection

Characteristic	Test System					
	BD MAX	FilmArray	eSensor	Prodesse	Verigene	Luminex
Method	Real-time PCR	Nested PCR with melt curve analysis	PCR with electrochemical detection	Real-time PCR	PCR with low-density nucleotide array	PCR with liquid phase bead array
Degree of multiplexing	4 targets	14–22 targets	13 targets	3–4 targets	1–16 targets	9–20 targets
Panels	GI	Respiratory, GI, CNS	Respiratory	Respiratory, GI	Respiratory, GI	Respiratory, GI, CNS
Testing location	Clinical laboratory	Near patient facility or clinical Laboratory	Clinical laboratory	Clinical laboratory	Near patient facility or clinical laboratory	Clinical laboratory
Complexity	Moderate	Moderate	High	High	Moderate	High
automation	Full	Full	Partial	Partial	Full	Partial
throughput	Low-medium	Low-medium	Medium	Medium	Low	Medium-high
Time to results	~3 h	~1 h	~6 h	3–4 h	~2 h	~5–8 h

Maliyet-etkinlik / Çocuklar

Cost Analysis of Multiplex PCR Testing for Diagnosing Respiratory Virus Infections[∇]

- James B. Mahony,^{1,4*} Gord Blackhouse,^{2,3} Jesse Babwah,⁴ Marek Smieja,^{2,4} Sonya Buracond,⁴ Sylvia Zheng,¹ William Cecchetti,¹ Tina Shea,¹ D. Mallan / Makin,¹ May Griffiths-Turner,⁴ and Ron Goeree^{2,3,4}
- İnfluenza-benzeri hastalık semptomları
 - Pnömoni hastalıklarında etkisini araştıran ilacın maliyet-etkinliği
 - Çalışmada deneysel olarak etkin bulunmuş
 - Çocuklarda hastanede kalış masrafı
 - Solunum yolundan etken izolasyon zamanı
 - Antibiyotik kullanımı
 - Kullanılan tanı yöntemlerine göre solunum yolu hastalığının prevalansı **≥%11** ise en ucuz yöntem

Maliyet-etkinlik/Eriřkinler

- Hastanede yatan ASY řüpheli hastalarda virus tespit edilde bile bakteriyel koenfeksiyon řüphesiyle antibiyotik tedavisine bařlanmakta 🧑
- Aşırı antibiyotik kullanımı; ilaç toksisitesi
- Balgamdan yapılan detaylı viral ve bakteriyel moleküler analiz TKP'da etyolojik tanısını anlamlı olarak arttırır
- "Tipik bakteriyel" etkenler için FDA-onaylı bir moleküler yöntem yok!

Maliyet-etkinlik/ Alternatif strateji

- Kùltür, idrarda pnömokok antijeni ve *Legionella* antijen testlerinin beraber çalışılması

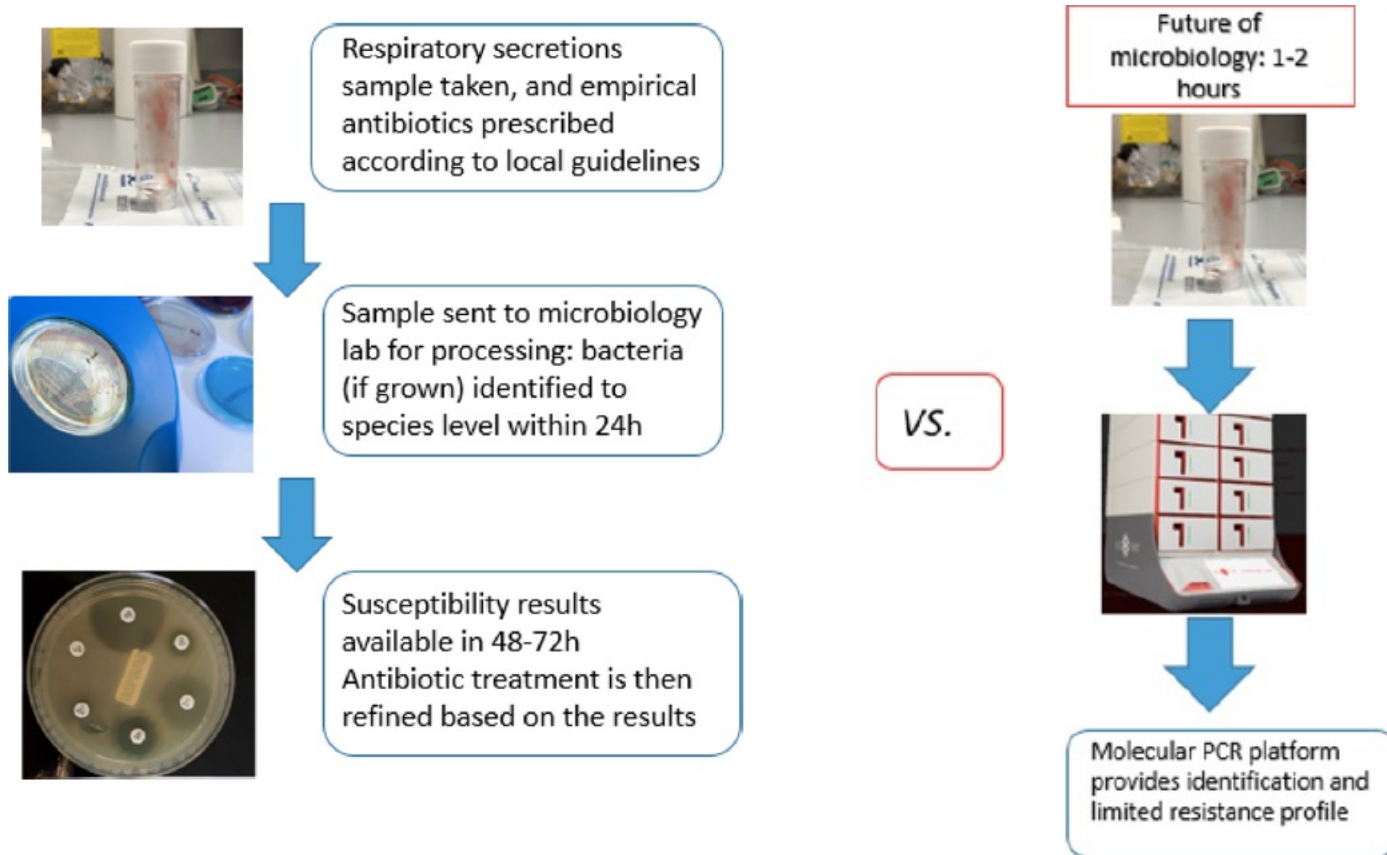


- Panel testlerle serum biomarkerlarının beraber çalışılması



- Konak immun yanıtının değerlendirilerek viral enfeksiyon tanısını dışlamak.

Sendromik yaklaşım ve Antibiyotik kullanımı

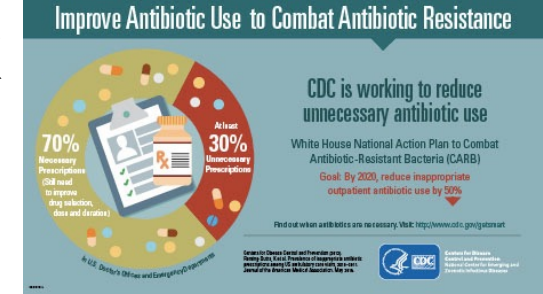


Gereksiz/Aşırı antibiyotik kullanımı

□ Aşırı ya da gereksiz antibiyotik artık bir “halk sağlığı” sorunu

□ Dünya genelinde bu sorunla baş etmek için devlet politikaları geliştirilmekte

- Daha iyi enfeksiyon kontrolü
- Yeni antibiyotik çalışmalarına destek
- **Antibiyotik yönetimi**



Hızlı Tanı ve Antibiyotik Kullanımı

- Dar spektrumlu antibiyotiklerin daha erken dönemde kullanımı

Vs.

- Mikrobiyolojik test sonuçları çıkana kadar geniş-spektrumlu antibiyotik kullanımı
- Viral etken tespiti halinde antibiyotik kullanımının sonlandırılması
- Hızlı tanı, ne kadar hızlı? **8 saat**

Hızlı Tanı ve Antibiyotik Kullanımı

- ❑ PCR bazlı hızlı tanı testleri çoğunlukla laboratuvarlarda çalışılmakta
- ❑ Bakteriyel etkenlerden daha çok viral etkenlere odaklı
- ❑ Rolü kısıtlı; sağlıklı kişilerde patojenik virus tespiti net tanıyı vermekte
- ❑ Klasik viroloji kompleks ve masraflı
- ❑ Hasta yönetimi/enfeksiyon kontrol amacına yönelik etkenleri tespit edebilir
- ❑ Viral etkenin tespiti; dar spektrumlu antibiyotiğe geçiş

Systematic review

Multiplex PCR system for the rapid diagnosis of respiratory virus infection: systematic review and meta-analysis

H.-S. Huang ^{1,2}, C.-L. Tsai ¹, J. Chang ⁴, T.-C. Hsu ^{2,3}, S. Lin ^{2,5}, C.-C. Lee ^{2,3,*}

Film Array
Verigene RV+
Prodesse



DFA
Kültür
RT-PCR

Influenza A; duyarlılık %94, özgüllük %98
En düşük tanı başarısı Adenovirus'te

- ✓ 5510 hasta üzerinden viral etkenlerin erken tanısında yardımcı



Original Article

The impact analysis of a multiplex PCR respiratory panel for hospitalized pediatric respiratory infections in Japan[☆]

Taito Kitano ^{a,*}, Hiroki Nishikawa ^b, Rika Suzuki ^b, Masayuki Onaka ^b, Atsuko Nishiyama ^b,
Daisuke Kitagawa ^c, Miyako Oka ^c, Kazue Masuo ^c, Sayaka Yoshida ^b

Film Array



Hızlı antijen testleri

8.56 gün

Antibiyotik tedavi süresi

12.82 gün

6.83 gün

Hastanede kalış süresi

8.18 gün



Original article

Evaluation of a molecular point-of-care testing for viral and atypical pathogens on intravenous antibiotic duration in hospitalized adults with lower respiratory tract infection: a randomized clinical trial

D. Shengchen^{1,2,3,†}, X. Gu^{4,5,6,†}, G. Fan^{4,5,6}, R. Sun^{4,5,6}, Y. Wang², D. Yu⁷, H. Li², F. Zhou², Z. Xiong⁸, B. Lu^{2,8}, G. Zhu³, B. Cao^{2,5,6,8,9,10,*}

Film Array



Real-time PCR

7 gün

Antibiyotik tedavi süresi

8 gün

8 gün

Hastanede kalış süresi

9 gün

1.6 s

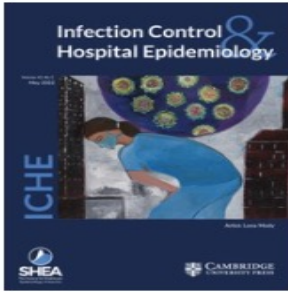
Sonuç verme süresi

29 s

1804 \$

Maliyet, ama...

2042 \$



Role of rapid diagnostics for viral respiratory infections in antibiotic prescribing decision in the emergency department

Published online by Cambridge University Press: 28 June 2019

Jing Li , S. Lena Kang-Birken, Samantha K. Mathews, Catelynn E. Kenner and Lynn N. Fitzgibbons

- 323/424 (%76.2) FilmArray pozitif
- Sadece 1/5'ine antibiyotik reçete edilmiş
- Konvansiyonel yöntemlere göre oran çok düşük

Panel testler ve Mikrobiyolojik tanıda pre-analitik faz

- Nadir görünen etkenlerin pozitifliği; yanlış pozitiflik?
- Panel genişlediğinde, bu etkenler için pozitif sonuçta klinik değerlendirme ihtiyacını arttırmakta
- Paneller numune temelli olmamalı; klinik, konak özelliği ve epidemiyoloji
- Kanıt-bazlı ve kişisel tanı yaklaşımı bırakılıyor mu?
 - Atipik etkenler
 - Fırsatçı etkenler, sağlıklı konak
 - Rhinovirus...

Panel testler ve Mikrobiyolojik tanıda pre-analitik faz

- ✓ “Laboratuvar yönetimi”, “Antibiyotik yönetimi”nin bir parçası olmalı
- ✓ Algoritmik stratejiler izlenmeli
 - Klinik değerlendirme
 - Risk faktörleri
 - Tedavi seçenekleri
- ✓ Less is more...
- ✓ “Her şeyi göreyim” anlayışı özel durumlarda; ko-infeksiyon, klinik önemi net olmayan etkenler; epidemiyolojik çalışma gereksinimi

Panel testler ve Mikrobiyolojik tanıda analitik faz

- Hızlı tanı testleri tedavi girişimlerini bazı durumlarda yönlendirebilir
- Ampirik tedavi ve izoalsyon önlemleri test sonucu beklerken uygulanmalı

Panel testler ve Mikrobiyolojik tanıda post-analitik faz

- Pozitif sonuçların klinik anlamı?
- Klinisyen ya da lab. teknisyeni yetkin mi?
- Örnek türü sonucu etkiler mi?
- Sendromik test sonuçlarının maliyet-etkinliği için randomize, non-inferiority çalışmaları (virus tespit edildiğinde antibiyotik tedavisine geç başlamanın güvenilirliği?)

Panel testler ve Mikrobiyolojik tanıda post-analitik faz

- ❑ Test öncesi klinik değerlendirme bir kenara bırakılmamalı
- ❑ Sistematik = Geniş/Kapsamlı test etme
- ❑ Odak noktası, çok sayıda patojen tespitinden anahtar roldeki patojenlerin tespitine kaymalı?
(influenza virus, RSV)
- ❑ Özel hasta gruplarındaki yararı göz ardı edilemez
(human metapneumovirus, parainfluenza)

Ne yapmalı?

□ Uygulama öncesi

- ✓ Hastane **patojen prevalansına** göre en uygun paneli tanımla
- ✓ Testi **nerede** yapacağını belirle
- ✓ ICD-10, hastanede yatış süresi ve 30-gün içinde tekrar yatış endikasyonu temelinde **maliyet** analizi
- ✓ Etkin **tedaviye ulaşmak** için geçen süre
- ✓ Enfeksiyon hastalıkları uzmanına **konsültasyon** süresi

Ne yapmalı?

- Uygulama esnasında
 - ✓ Test nerede yapılacak?
 - ✓ Test ne zaman çalışılacak? 7/24 mü
 - ✓ Mikrobiyolog tarafından valide edilmiş ekipman
 - ✓ Mikrobiyolog-klinisyen-EKK arasında iletişim
 - ✓ Tıbbi personelin eğitimi

Ne yapmalı?

- Uygulama sonrasında
 - ✓ Etkin tedaviye ulaşma süresi
 - ✓ Antibiyotiği kesme ya da değiştirme için geçen süre
 - ✓ Enfeksiyon hastalıkları uzmanına **konsültasyon** süresi
 - ✓ Hastanede yatış süresi
 - ✓ 30-gün içinde yeniden yatış endikasyonu
 - ✓ Mortalite

Sonuç Olarak....

- Sürücü koltuğunda kim olacak; testler mi bizi yönlendirecek yoksa tıbbi gereksinimler mi?
- Teknolojik olarak yapılabilir olmak yeterli mi? Klinik hipotezler?
- Gereksiz tedavi
- Kaynakların tüketimi...

Teşekkürler...