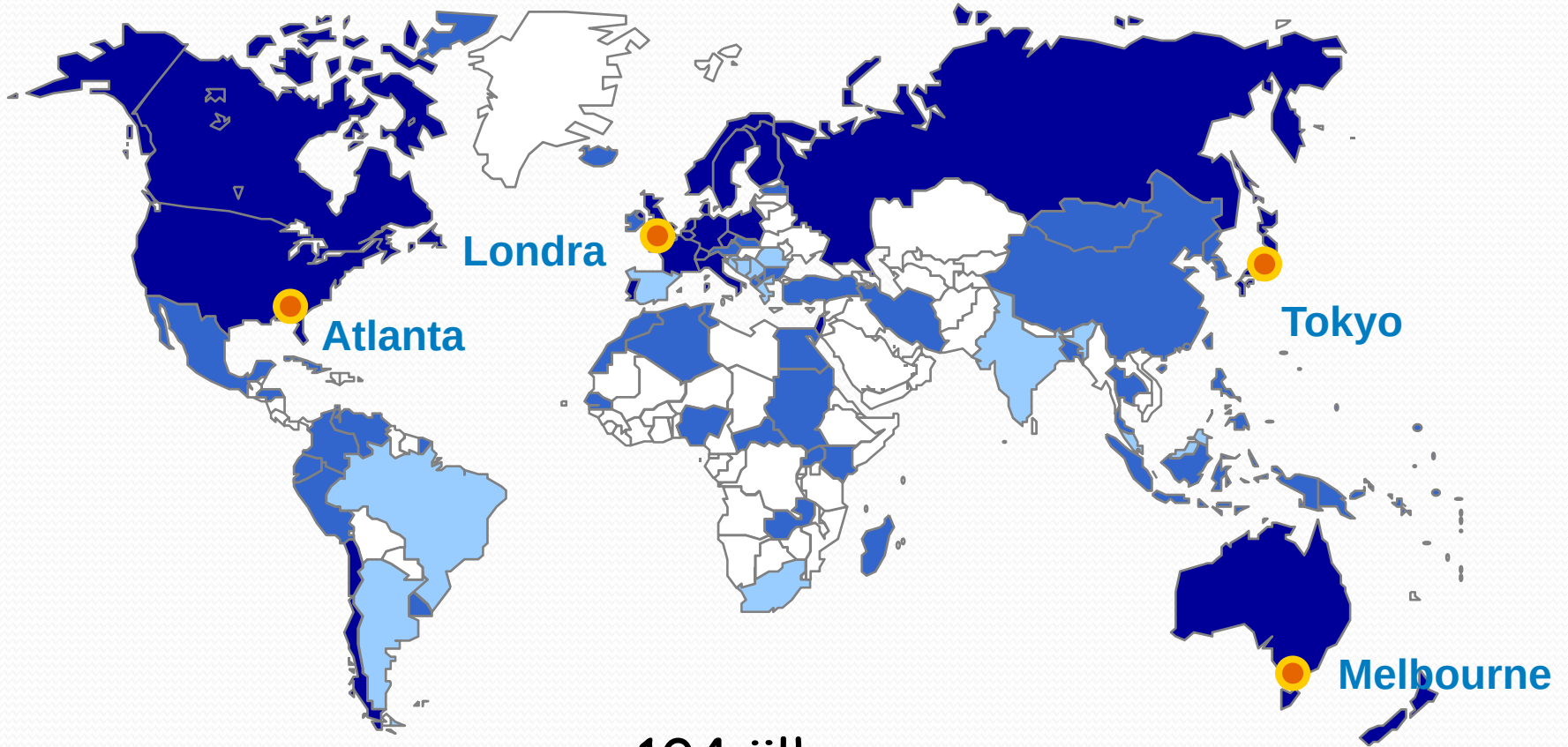


INFLUENZA TANISINDA LABORATUAR İŞLEYİŞİ VE OLASI SORUNLAR

Melis Kanturvardar

DSÖ SÜRVEYANSI

GISN: 1952



104 ülke

+

134 Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarı

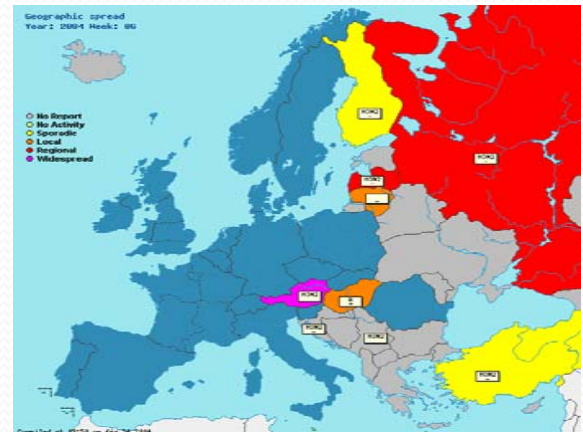
Neden Grip Sürveyansına Başladık?

- DSÖ FLUNET sitesinde veri eksikliği
- Dolaşımdaki suş - aşı suşu uyumu ve aşılama ile ilgili kaygılar

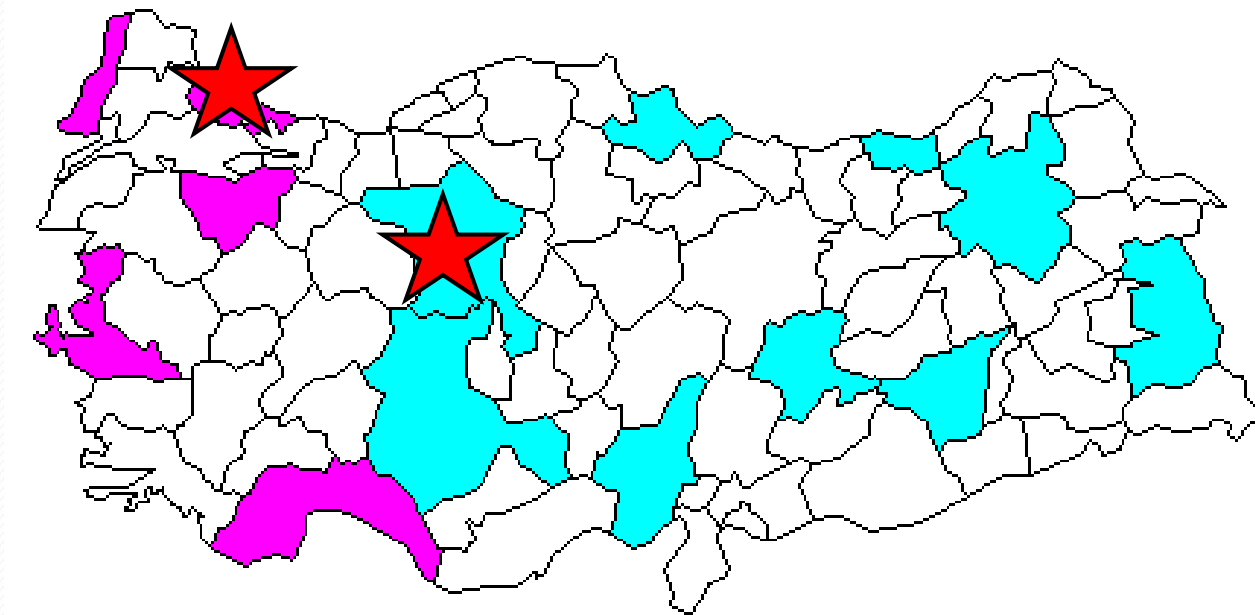
ILI activity, 28/12/97 to 26/12/98, Europe



Legend: No Participating, No Report, No Activity, Sporadic, Local Outbreak, Regional Outbreak, Widespread Outbreak



Sentinel Sürveyans



İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji A.D. Viroloji ve Temel immünoloji B.D.
Antalya, Bursa, Edirne, İstanbul, İzmir

Ankara Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi
Ankara, Adana, Erzurum, Malatya, Konya, Samsun, Trabzon, Van

Mevsimsel Influenza Sürveyansının Amaçları

- İnfluenza sezonunun başlangıcını ve bitişini tespit etmek
- Hangi tip-alttipin dolaşımda olduğunu tespit etmek
- Aşı suşları ile uyumu kontrol etmek
- Antiviral direnç durumunu kontrol etmek
- Aşı suşunu belirlemek için DSÖ'ne örnek göndermek

Organizasyon

- Her sene sezon başında hekimlerle toplantı yapıp ihtiyaçlar belirlenmeli, eksiklikler tamamlanmalı ve bir önceki sezonun değerlendirmesi yapılmalıdır.
- Sürveyans süresince de hekimle laboratuvar arasındaki iletişim devam etmelidir.

Örneklerin Seçimi ve Laboratuara Ulaştırılması

- Olası vaka tanımı yapılmalı
 - Örnekler
 - doğru zamanda
 - doğru yerden
 - yeterli miktarda
- alınmalı.
- Hasta bilgi formlarının doğru ve eksiksiz doldurulmalı.

Örneklerin Alınması

Semptomlar başladıktan sonra 2 gün içerisinde alınmalı

Nazofaringeal
Nazal

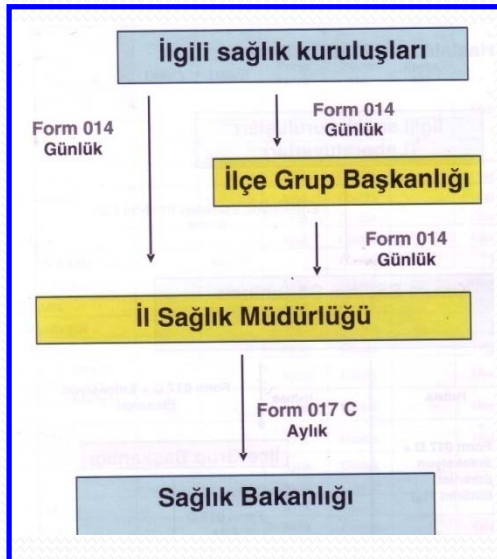


Hasta formları ile beraber gönderim yapılmalı.

Hasta Bilgi Formları

Her ilde 10 Sağlık Ocağı seçilerek:

- * Haftalık olarak polikliniklerden IBH sayısı
- * Her hafta bir olası vakadan örnek lab.iletilecek
- * İl Sağı. Md. kendisine bildirilen Olası Vaka sayılarını, TSHGM'e bildirmekte, ayrıca vakaların ay sonunda "Form 017C" ile de bildirim yapılır



ULUSAL İNFLUENZA SÜREYANSI HAFTALIK TAKİP FORMU										
İL :										
DÖNEM :	.../.../... PAZARTESİ İLE BAŞLAYAN HAFTA									
Bu form, İl Sağlık Müdürlüğü tarafından hazırlanarak, Bakanlığa gönderilecektir.										
SÜREYANS KATILAN SAĞLIK OCAĞI SAYISI	TESPİT EDİLEN OLASI VAKA SAYISI							YATAKLI TEDAVİ KURUMLARINA SEVK EDİLEN OLASI VAKA SAYISI	LABORATUVARA GÖNDERİLEN ÖRNEK SAYISI	
	0-11 AY	1-4 YAŞ	5-14 YAŞ	15-24 YAŞ	25-44 YAŞ	45-64 YAŞ	65 + YAŞ			TOPLAM
10										
SÜREYANS KATILAN GÖNÜLLÜ HEKİM SAYISI								HASTANEYE YATIRILAN OLASI VAKA SAYISI		
BULAŞICI HASTALIKLAR ŞUBE MÜDÜRÜ								İL SAĞLIK MÜDÜRÜ		
İMZA								İMZA		

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI TEMEL SAĞLIK HİZMETLERİ GENEL MÜDÜRLÜĞÜ İNFLUENZA HASTA BİLGİ FORMU*		
* Bu form sadece Olası İnfluenza Vakalarından Klinik örnek göndermek amacıyla kullanılacaktır.		
HASTANIN KİMLİK BİLGİLERİ		
ADI SOYADI		
YAŞI		
CİNSİYETİ		
MESLEĞİ		
ADRES VE TELEFON		
SEMPTOMLARIN BAŞLANGIÇ TARİHİ		
ÖRNEĞİN ALINDIĞI TARİH		
HASTALIK BELİRTİLERİ		
ATEŞ	VAR	YOK
OKSÜRÜK		
MİYALJİ		
BAŞAĞRISI		
NAZAL AKINTI		
NAZAL OBSTRUKSİYON		
AKUT SOLUNUM YETMEZLİĞİ		
DİĞER		
ÖYKÜSÜNDE		
Grip Aşısı YAPILMIŞ MI?	VAR	YOK
EŞLİK EDEN HASTALIK VE/VEYA KOMPLİKASYON (Varsa yazınız.)		
İŞ VEYA EV ORTAMINDA BENZER HASTALIK TABLOSU OLAN KİŞİ VAR MI?		
DİĞER		
MATERYALİN CİNSİ		LABORATUVAR SONUCU
NAZAL SÜRÜNTÜ		
NAZOFARINGEAL SÜRÜNTÜ		
NAZOFARINGEAL ASPIRAT		
DİĞER		
GÖNDEREN MERKEZ		
Hastane ya da Sağlık Ocağı Adı		
Doktor		
Telefon		
Faks		
E-mail		
GÖNDERİLEN LABORATUVAR (İŞARETLEYİNİZ)		
İSTANBUL Ü. İSTANBUL TIP FAK.	REFİK SAYDAM HİFZİSİHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI	DİĞER (Adı):

Örneklerin Laboratuara Gönderilmesi

- İnfluenza transport besiyeri;
 - serum içermemeli
 - nötral pH'lı olmalı
 - protein stabilitesini sağlamak için jelatin, bakteri üremesini engellemek için antibiyotik içermeli

Transport

- Viral transport besiyeri
- En hızlı şekilde gönderim



Uygun Tanı Yönteminin Seçilmesi:

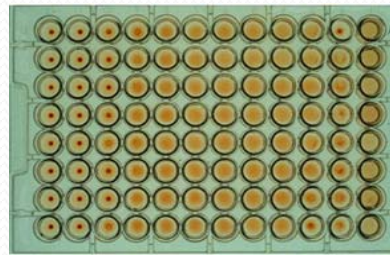
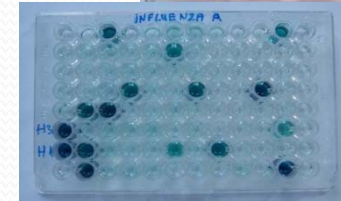
- Yöntemin, bağlı bulunulan sürveyans ağı tarafından kabul edilmesine
- Testin güvenilir olmasına
- Influenza aktivitesindeki duruma
- Hastanın durumuna

bağlıdır.

Mevsimsel Influenza

Amaç Virusu İzole Etmektir

- **MDCK Hücre Kültürü:** Klinik örneklerden virusu izole etmek için
- **Immuno-capture ELISA:** İnfluenza A/B ay
- **RT-PCR:** Alt-tiplendirme
- **HA ve HAI:** Virus titrasyonu ve antijenik tiplendirme



A/Fujian/10/99 (H3N2)

Bu Testler ile;

İnfluenza sezonunun başlangıcını ve bitişini belirlemekteyiz.

İnfluenza Sezonu	Başlangıç Haftası	Pik Haftaları	Bitiş Haftası
2004-2005	49	1-2	8.
2005-2006	47	8-9*	17.
2006-2007	49	4-5	17.
2007-2008	44	2-3	18.
2008-2009	48	3. ve 10.	21.

Hangi tip-alttipin dolaşımında olduğunu tespit etmekteyiz

Yıl	Örnek sayısı	Influenza A	Alt Tip	Influenza B
2003-4	204	91 (% 44,6)	H3N2	0
2004-5	458	86 (% 18,8) %86	39 H1N1 4 H3N2	14 (% 3,1) %14
2005-6	1317	168 (% 12,8) % 89.3	H3N2	20 (% 1,5) %10.6
2006-7	1118	46 (% 4,1) %64.7	H3N2	25 (% 2,2) %33
2007- 8	524	111 (%21.1) %68	H1N1	52 (%9.9) %31
2008-2009	580	31 (%5.3) %50	H3N2	31 (5.3) %50
2009-2010	4663	1545	Pdm H1N1 27 H3N2	0

Aşı suşları ile uyumu kontrol etmekteyiz

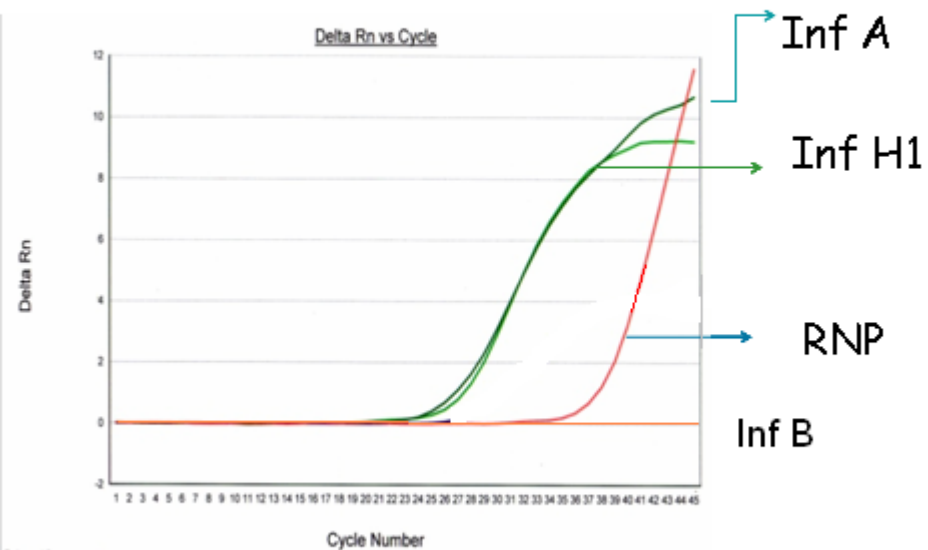
GRİP SEZONU	TÜRKİYE BULGULARI	AŞI İÇERİĞİ
2003-2004	H3N2: A/Fujian/411/02	H3N2: A/Moscow/10/99 H1N1: A/New Caledonia/20/99 B : B/Hong Kong/330/01
2004-2005	H1N1: A/HK/2367/2004 A/New Caledonia/20/99 A/Netherlands/128/2004 H3N2: A/Shantou/1219/2004	H3N2: A/Fujian/10/99 H1N1: A/New Caledonia/20/99 B : B/Shanghai/361/2002
2005-2006	H3N2: A/Hong Kong/443/05 B : B/Jiangsu/10/03 B/Florida/7/05 B/Malaysia/2506/04	H3N2: A/California/7/2004 H1N1: A/New Caledonia/20/99 B : B/Shanghai/361/2002 B/Jiangsu/10/2003
2006-2007	H3N2: A/Wisconsin/67/2005 A/California/7/2004 B : B/Victoria/2/87 B/Yamagata/10/88	H3N2: A/Wisconsin/67/2005 A/Hiroshima/52/2005 H1N1: A/New Caledonia/20/99 B : B/Malaysia/2506/2004 B/Ohio/1/2005
2007-2008	H1N1: A/Solomon Islands/3/2006 B : B/Florida/4/06	H3N2: A/Wisconsin/67/2005 H1N1: A/SolomonIslands/3/2006 B : B/Malaysia/2506/2004
2008-2009	H3N2: A/Brisbane/10/2007	H3N2: A/Brisbane/10/2007 H1N1: A/Brisbane/5972007 B : B/Florida/4/2006

Tanı Testleri: Özgüllük ve Duyarlılık

Test	Sonuç alma	Duyarlılık	Özgüllük
rRT-PCR	2-4 saat (45 dak)	%90-100	%100
Viral Kültür	3-10 gün	%100	%100
IFA	2-4 saat	%70-100	%80-100
Hızlı Testler	≤15 dakika	%20-70	%>97
Seroloji	2+ hafta	Daha çok tarama amaçlı	

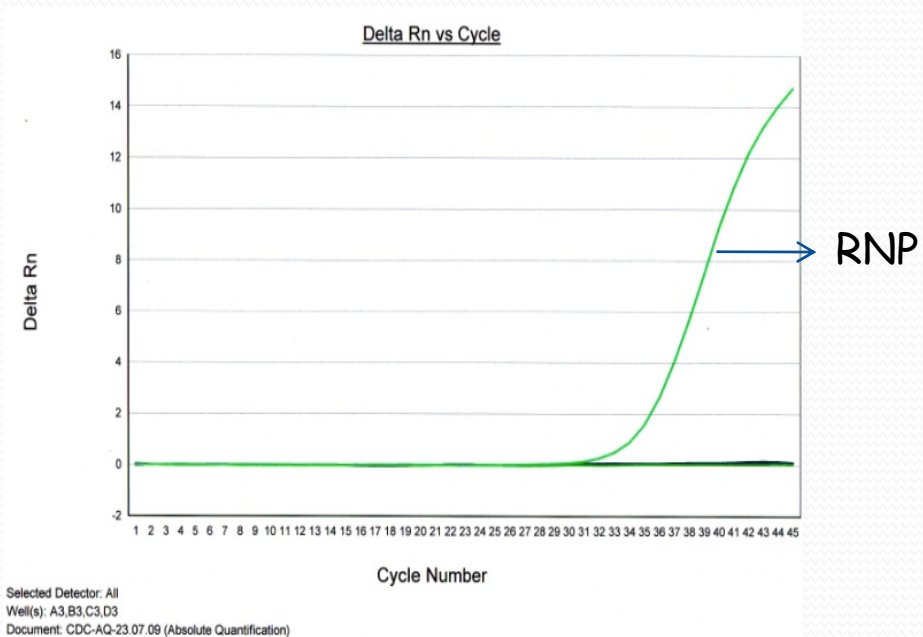
Real Time RT-PCR

Pozitif Örnek



Selected Detector: All
Well(s): A2,B2,C2,D2
Document: CDC-AQ-23.07.09 (Absolute Quantification)

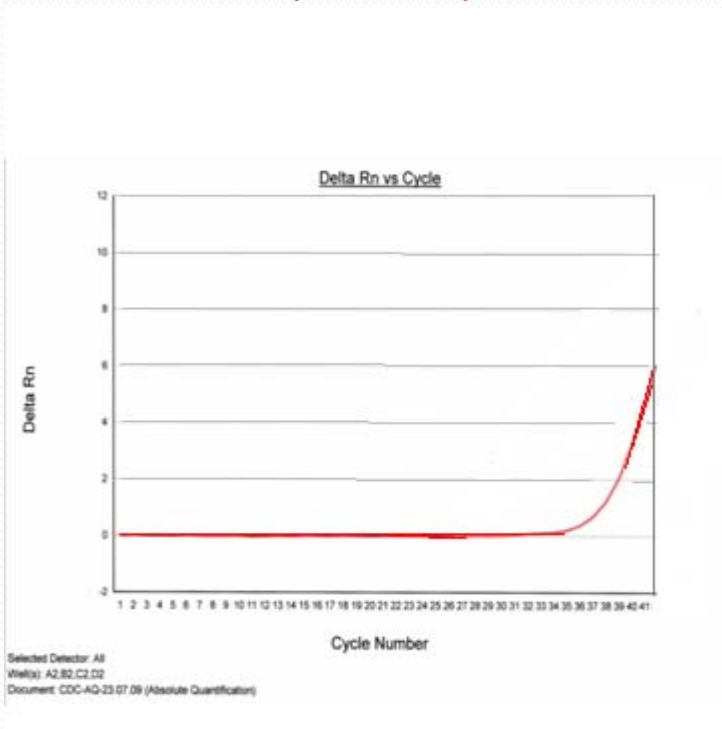
Negatif Örnek



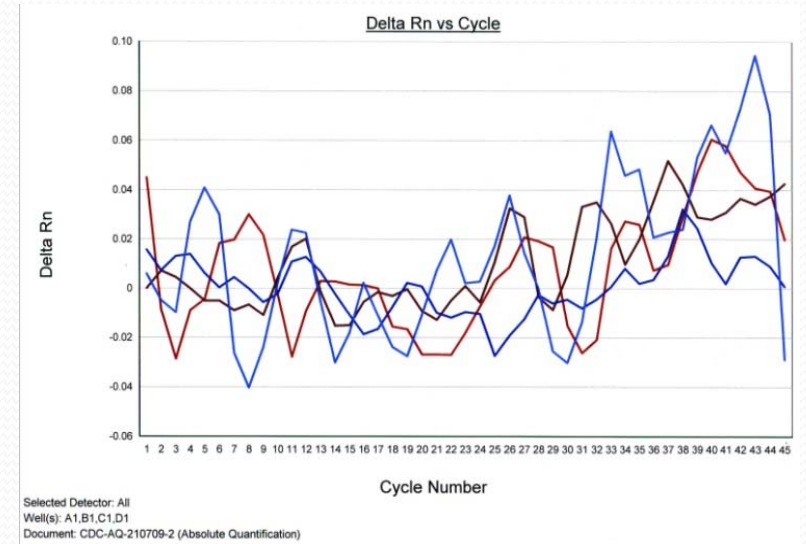
Selected Detector: All
Well(s): A3,B3,C3,D3
Document: CDC-AQ-23.07.09 (Absolute Quantification)

PCR Sorunları

Geç Amplifikasyon



Kötü Örnek

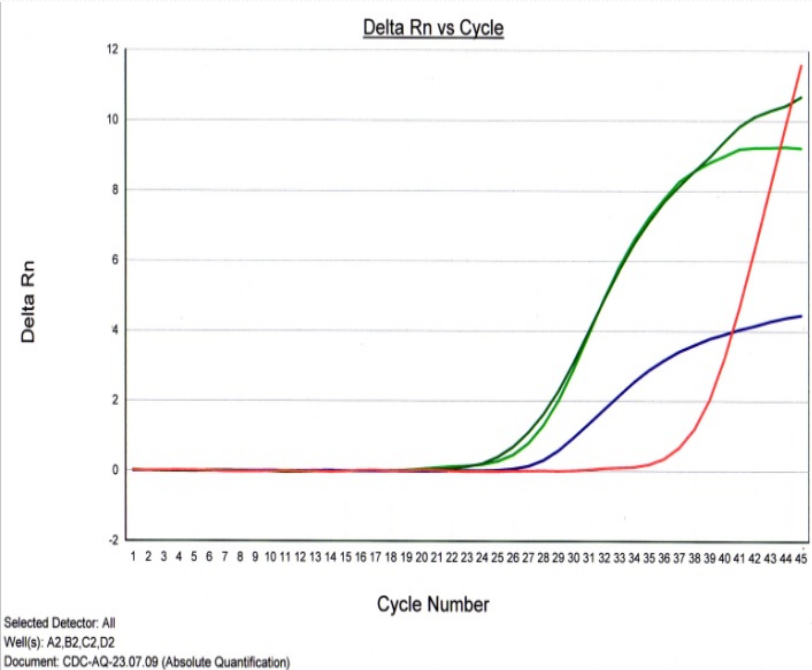


PCR Sorunları

Negatif Kontrolün Amplifiye Olması

Kontaminasyonu önlemek için;
4 ayrı oda kullanılmalıdır.

- 1.Örneklerin açılıp tüplere konulduğu oda
- 2.Extraksiyon odası
- 3.PCR karışımının hazırlandığı 'temiz' oda
- 4.Görüntülemenin ve amplifikasyonun yapıldığı 'kirli' oda



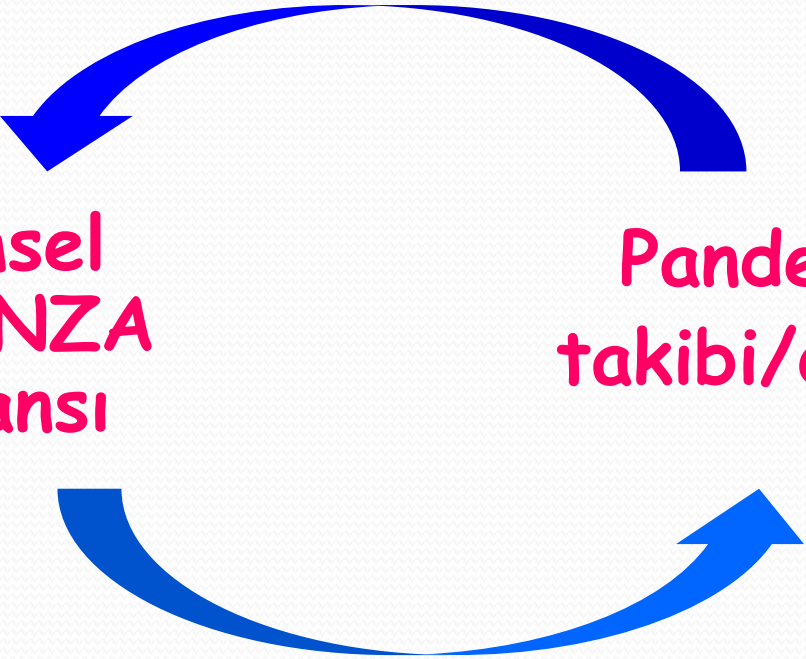
Sonuç Bildirimi

Hekime geri bildirim zorunlu değildir. ANCAK...

Sağlık Bakanlığı'na bildirim yapılmaktadır.

Salgın durumunda İl Sağlık Müdürlüğü'ne bildirim yapılmaktadır.

Sonuçların influenza sürveyans ağına en kısa sürede girilmesi gerekmektedir.



Mevsimsel
INFLUENZA
sürveyansı

Pandeminin
takibi/denetimi

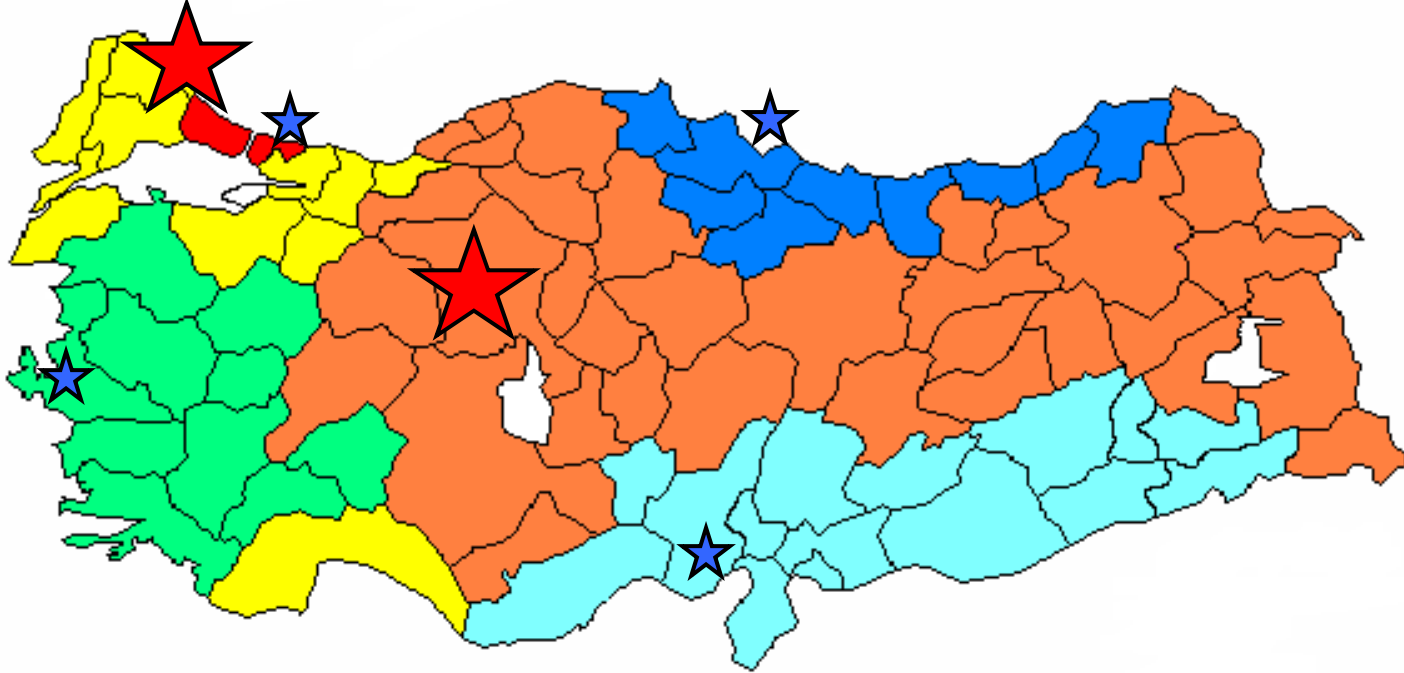
Pandemide Sentinal Sürveyans

- Zaman içinde durum değişiyor mu?
 - * IBH/ASH için sentinal sürveyans
 - * Toplumda pandemik suşun bulunma sıklığı için lab. verileri
 - * Yaş gruplarına göre virüs izolasyon oranları
- Hastalık boyutu nedir ve değişime uğruyor mu?
 - * SARI sentinal sürveyansı
 - * Sentinal merkezlerde ölüm oranları
 - * Hastaneye yatırılan olguların klinik özellikleri
- Virüs değişime uğruyor mu?
 - * Direnç ve diğer mutasyonların izlenmesi
 - * Ağır ve hafif olgularda virüs özellikleri

Pandeminin boyutunu izlemek neden önemli?

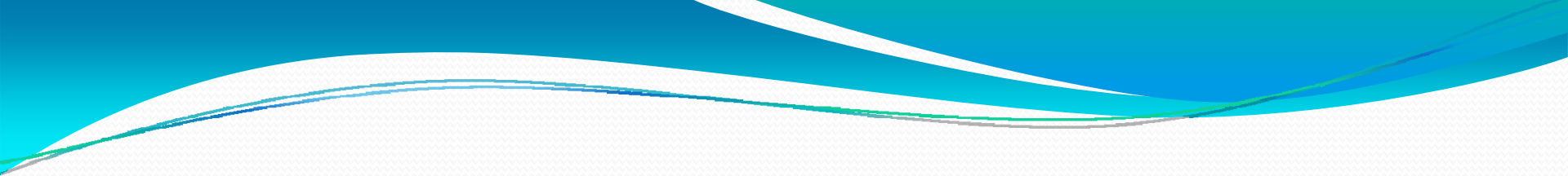
- Önlemlere başvurmada karar verebilmek için
 - * Okulların kapatılması
 - * Toplu halde bulunmalara kısıtlama
 - * Aşılama önceliklerinin belirlenmesi
 - * Anti-viral kullanımında önceliklerin belirlenmesi
- Aşı hazırlığı için zaman kazanma
- Yayılımı yavaşlatma

Sürveyans Genişletilir



★ Ulusal Influenza Referans Laboratuvarları

★ RSHSM Destekli Laboratuvarlar



Birincil Öncelik

Hızlı ve Doğru TANI !!!

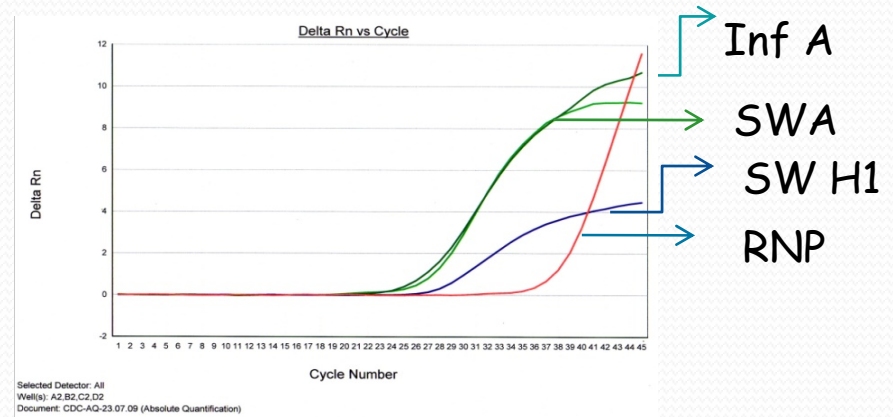
Real Time RT-PCR

Real Time RT-PCR Kullanılmaktadır

"CDC Realtime RT-PCR (rRT-PCR) Protocol for Detection and Characterization of Swine Influenza (version 2009)"

Her örnek için

- Influenza A
- SW Influenza A
- SW H1
- RNP



<http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/realtimeptpcr/en/index.html>

Sonuç Bildirimi

- Sağlık Bakanlığına
 - İl Sağlık Müdürlüklerine
 - Gerekli durumlarda doktora- yoğun bakım servisine bildirim
- yapılmaktadır.

Laboratuvarımızda Pandemi Döneminde Yapılan Çalışmalar

- Hızlı test
- Seroloji
- Direnç gelişimi - mutasyon analizi

Sensitivity of rapid influenza antigen tests in the diagnosis of pandemic (H1N1)2009 compared with the standard rRT-PCR technique during the 2009 pandemic in Turkey

**MERAL AKCAY CIBLAK, MELIS KANTURVARDAR, SERKAN ASAR, EMEL BOZKAYA,
O. SADI YENEN & SELIM BADUR**

From the National Influenza Reference Laboratory, Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey

Coris

%31,2

SD

%33,3

BD

%50

Quickvue

%47,9

Seroloji (HAI)

Gruplar	Neg (%)	40 (%)	80 (%)	160 (%)	320 (%)	>320 (%)	HAI ≥ 40 ↓ % 88.2
Temaslılar (s=43)	11,6	18,6	16,2	27,9	16,2	9,3	% 88.2
Aşılılar (s=51)	1,9	41,1	23,5	11,7	17,6	3,9	% 97.9
H1N1 + (s=13)	-	23	23	23	30,7	-	% 99.7
Kontrol (s=27)	55,5	33,3	7,4	-	3,7	-	% 44,4

Sonuç Olarak;

- Sürveyans influenza virüsünün aktivitesini izlemekte hayati öneme sahiptir.
- Pandemi takibine yardımcı olmaktadır.

Teşekkürler

Melis Kanturvardar

Hızlı Testlerle İlgili Yayınlar

- Drexler JF, Hemler A, Kirberg H, Reber U, Panning M, Müller M, et al. Poor clinical sensitivity of rapid antigen test for influenza A pandemic (H1N1) 2009 virus. *Emerg Infect Dis* 2009;15:1662 – 4.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Performance of rapid influenza diagnostic tests during two school outbreaks of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection — Connecticut, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:1029 – 32.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Evaluation of rapid influenza diagnostic tests for detection of novel influenza A (H1N1) virus — United States 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:826 – 9.
- Chan KH, Lai ST, Poon LLM, Guan Y, Yuen KY, Peiris JS. Analytical sensitivity of rapid influenza antigen detection tests for swine-origin influenza virus (H1N1). *J Clin Virol* 2009;45:205 – 7.
- Hurt AC, Baas C, Deng YM, Roberts S, Kelso A, Barr IG. Performance of influenza rapid point-of-care tests in the detection of swine lineage A(H1N1) influenza viruses. *Influenza Other Respi Viruses* 2009;3:171 – 6.