

VİRAL TANI

Viral Diagnosis

Prof.Dr. Yılmaz Akça
Prof.Dr. Feray Alkan
Prof.Dr. Aykut Özkul
Prof.Dr. Seval Bilge-Dağalp
Prof.Dr. M. Taner Karaoğlu
Prof.Dr. Tuba Çiğdem Oğuzoğlu

Tanım

- Viral infeksiyonlarının tanısının konması amacıyla yapılacak her türlü klinik ve laboratuvar uygulamalarının bir bütünüdür.

Tanıya giden yol sırasıyla şu basamakları içerir;

1. Klinik Bulgular
2. Laboratuvar Tetkikleri (Hekim Yönlendirir)
3. Laboratuvar Uygulama ve Sonuçların Alınması
4. Sonuçların Yorumlanması
5. **TANI**

1. Klinik Deęerlendirme

Hayvan (hasta) sahibinin vereceği bilgiler (anamnez) doğrultusunda yapılacak fiziksel muayene bulgularını kapsar.

[https://tr.wikipedia.org/wiki/%C5%9Eap_\(hastal%C4%B1k\)](https://tr.wikipedia.org/wiki/%C5%9Eap_(hastal%C4%B1k))

<http://ec2-107-21-65-169.compute-1.amazonaws.com/content/ABAAAe3sAA/segedos-manejo-cocho-na-fazenda>



<http://homepage.usask.ca/~vim458/virology/studpages2009/VirusWebsite/ibr.html>



<http://tarim.com.tr/Haber/31487/Cicek-Hastaligi-Hayvan-Pazarini-Kapatirdi.aspx>



<https://www.studyblue.com/notes/note/n/herpesvirus/deck/11147477>

Yapılan fizik muayene sonucunda şüphelenilen belli başlı infeksiyonlar belirir. Bu infeksiyonların bir diğferinden ayırımı (**differential diagnosis**) ancak laboratuvar desteği ile mümkün olabilmektedir.

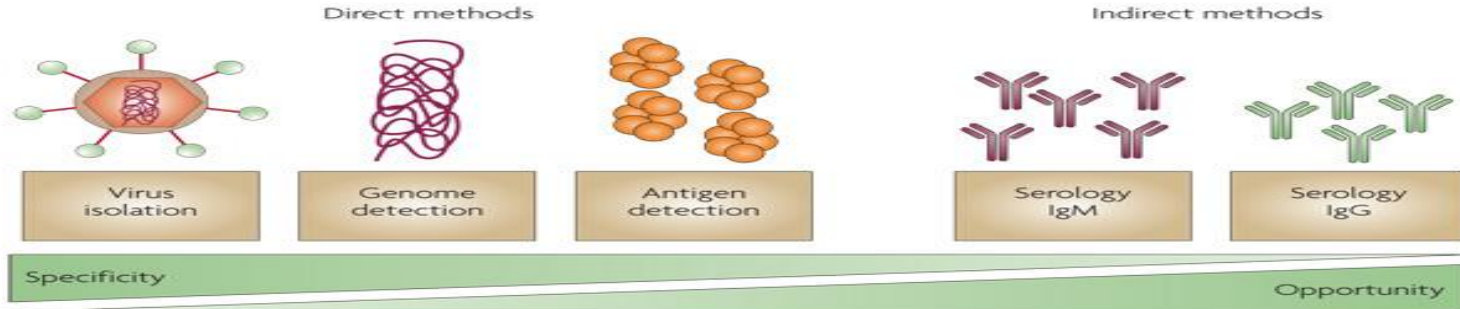
Bu noktada dikkat edilmesi gereken en önemli unsurlar:

İnfeksiyonun dönemi (Akut, konvalesan)

İnfeksiyonun formu (Jeneralize, lokal)'dur.

Buna göre **DİREK** veya **İNDİREK** teşhis amacıyla hasta bireylerden örnekler alınır.

2. Laboratuvar Tanı



http://www.nature.com/nrmicro/journal/v8/n12_supp/fig_tab/nrmicro2459_F1.html

DİREK TANI: Hastalığın sebebi virus veya viral yapıların (nükleik asit, protein alt yapıları) üretilmesi veya tespit edilmesi suretiyle yapılan tanı işlemidir.

İNDİREK TANI: Viral infeksiyon sonrasında gerek virusa karşı oluşan Ig'lerin ve gerekse dejenere veya tahrip olan hücrelerden açığa çıkan yapıların serolojik veya biyokimyasal olarak tespit edilmesi yoluyla yapılan tanı işlemidir.

Tanısal amaçlı olarak bireylerden alınan her türlü örneğe **MARAZİ MADDE** adı verilir.

Direk Tanı Amacıyla Alınabilecek Örnekler

- CANLI HAYVANLARDAN

1. Viremik hayvanlardan kan (defibrine & antikoagülanlı)
2. İnfeksiyonun klinik seyrine göre dışkı, idrar, vesikül içeriği
3. Deri kazıntıları,
4. Swap (nasal, konjunktival, farengeal, genital)
5. Çalkantı sıvıları (Uteral, preputial, rectal), süt, sperma
6. Mide aspiratları,
7. Punction sıvıları (apse içerikleri, peritoneal veya plöyral effüzyonlar)



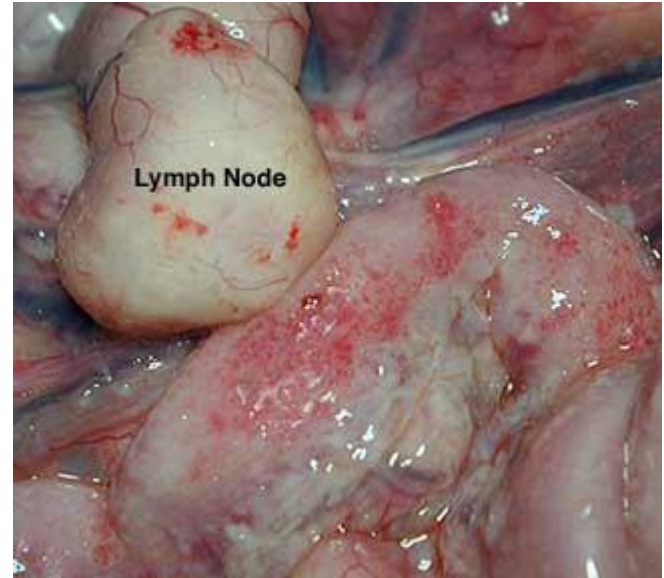
- ÖLÜ veya ÖLDÜRÜLMÜŞ HAYVANLARDAN

1. Her türlü organ materyali,
2. Göğüs ve karın boşluğunda birikmiş sıvılar (effüzyonlar),
3. Kardiak kan,
4. Barsak içeriği

<http://www.lbah.com/word/feline/feline-infectious-peritonitis-fip/>



<http://ec2-107-21-65-169.compute-1.amazonaws.com/content/ABAAAAe3sAA/seg-redos-manejo-cocho-na-fazenda>



<http://www.lbah.com/word/feline/feline-infectious-peritonitis-fip/>

Genel Bir Uygulama Olarak,

Solunum Sistemi Belirtileri ile Seyreden Hastalıklardan Sonra: Canlı hayvanlardan nasal, farengeal, oral swaplar, ölenlerden lezyonlu akciğer dokusu, mediastinal lenf yumrusu, tracheal kazıntı, efüzyon örneği.

Sindirim Sistemi Belirtileri ile Seyreden Hastalıklardan Sonra: Canlı hayvanlardan gaita, rektal swap; ölenlerden özefagus, mide ve barsak mukoza kazıntıları, doku parçaları, mide ve barsak içerikleri, mezenteriyal lenf yumruları, peyer plakları ve varsa asites sıvısı.

MSS Belirtileri ile Seyreden Hastalıklar: BOS, MSS dokusu.

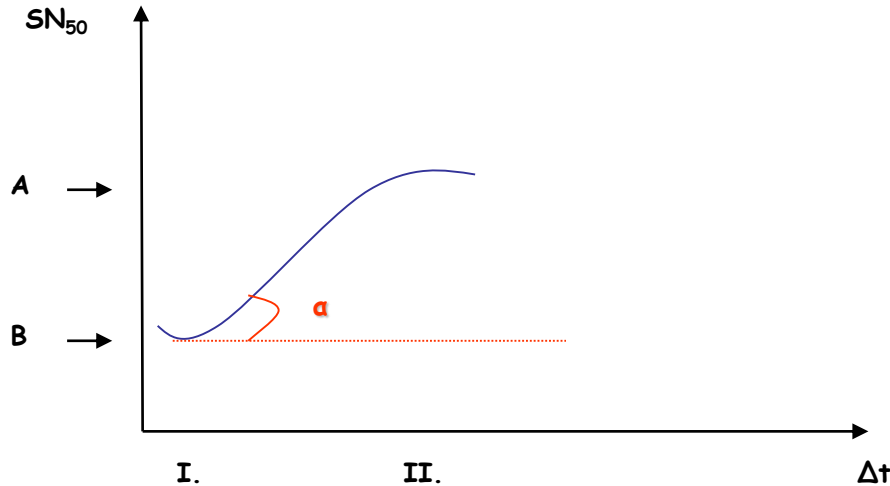
Multisistemik Hastalıklarda: Kan, lenforetiküler doku (dalak, karaciğer, lenf yumruları), perikard, efüzyon ve asites sıvıları ve lezyonlu tüm dokular

VİRAL TEŞHİS AMACIYLA LABORATUVARA GÖNDERİLİR!!!

İndirek Tanı Amacıyla Alınabilecek Örnekler-1

İndirekt tanı, temel olarak canlı veya cansız hayvanlardan alınacak kan serumu örneklerinden yararlanılarak yapılmaktadır.

Serolojik amaçlı tanı işlemleri kan serumu yanında süt ve BOS örneklerine de yaygın bir şekilde uygulanabilmektedir.



15 gün arayla alınan iki kan örneğindeki (I ve II) en az 2 katlı antikor titre artışı ($B \geq 2A$) geçirilmiş akut infeksiyonun göstergesidir.

İndirek Tanı Amacıyla Alınabilecek Örnekler-2

Biyokimyasal ve hematolojik parametreler kullanılarak da infeksiyonların tanısına yönelik önemli ip uçları elde edilebilir.

Orthomyxovirus → NANA (N-asetil nöyraminik asit)

Hepatitler → Karaciğer enzimleri (ALP, AST, SGPT vb)

Parvovirus → Panlökopeni

Sığır löykozu → Lökosit sayısındaki artış

DİKKAT !!!

Alınan örnekler her ne amaçlı olursa olsun, mutlak suretle bir rapor eşliğinde laboratuvara gönderilmelidir. Rapor şu bilgileri içerir;

1. Hastalığın klinik belirtileri
2. Uygulanan tedavi özeti
3. Patolojik bulgular (otopsi yapıldıysa)
4. Şüphelenilen, aranması istenen, etkenler

Örneklerin Transportu (Nakli)

Örnekler mutlak suretle soğuk zincir bozulmaksızın laboratuvara gönderilmelidir.

Kritik önemi olan nokta;

Direk tanı amacıyla örneklerde virus inaktivasyonunun önüne geçilmesi amacıyla hücresel bütünlük muhafaza edilmelidir.

Bu amaçla transport sıvılardan yararlanılır;

- PBS (Phosphat buffered saline)
- %50 Gliserinli PBS
- Serum Fizyolojik (% 0.9 NaCl)

**FORMOL - VİRAL TRANSPORT SIVISI OLARAK KESİNLİKLE
KULLANILMAMALIDIR!!!**

http://www.therapak.co.uk/catalog/insulated_shippers



http://www.sogukzincirtasima.com/index.php?route=product/product&product_id=183



<http://www.ebay.com/itm/Techni-Ice-Standard-Use-2-Ply-Disposable-Minimum-Reuse-Dry-Ice-Pack-5-Sheets-/141663693404>



<http://urun.gittigidiyor.com/ev-bahce/buz-akusu-buz-kasedi-360-gr-75-adet-258456017>

DOĞRU LABORATUVAR SEÇİMİ

Alınan örnekler şüphelenilen hastalığın etkenini çalışabilen laboratuvarlara gönderilmelidir;

- TC Tarım ve Köyřleri Bakanlığı
- Merkez Araştırma Enstitüsü Laboratuvarları (Kuduz ve diğer bir çok viral infeksiyon)
- şap Enstitüsü (şap hastalığı)
- Üniversite Laboratuvarları
- Özel laboratuvarlar

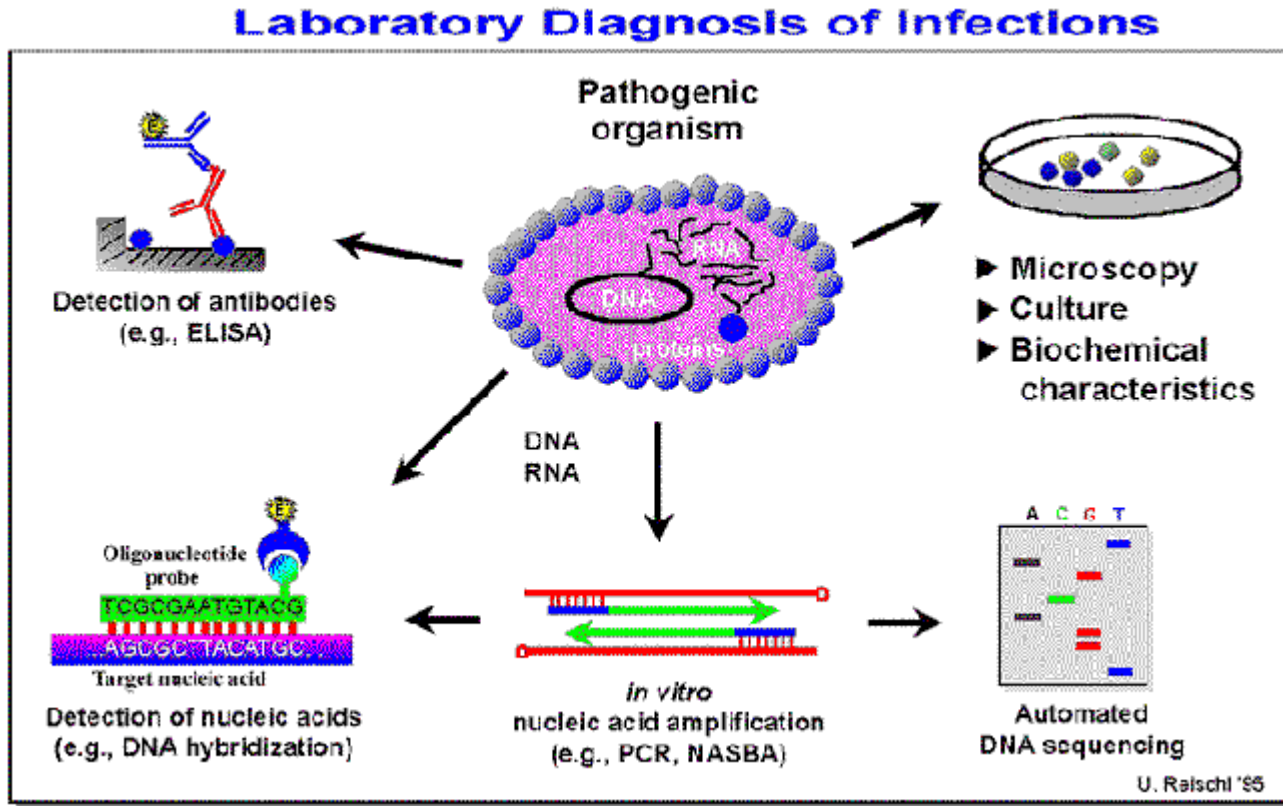


DOĞRU LABORATUVAR YÖNTEMİNİN SEÇİMİ

Alınan örneklere (tipi, kalitesi vs.)

Şüphe edilen hastalıklara göre

OIE tarafından önerilen teknikler



Marazi Maddeden İnokulum Hazırlanması

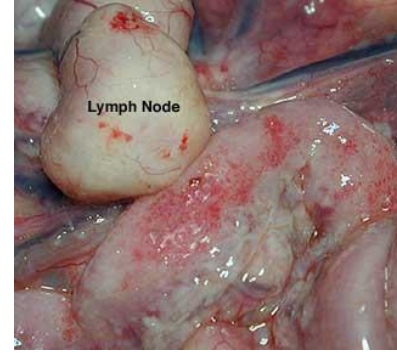
Marazi Madde: Virus infeksiyonundan şüpheli bireylerden (canlı veya ölü) alınan her türlü örneğe marazi madde adı verilir.

İnokulum: Yapısına uygun biçimde işlenerek (Processing) hücre kültürlerine inokulasyona hazır hale getirilmiş ve her türlü üniselüler mikroorganizmadan arındırılmış marazi maddeye inokulum adı verilir.

İki kavram arasındaki en önemli fark örneğin hücre kültürü sistemlerine inokule edilmeden önceki virus harici patojenlerden arındırılması (kısmi sterilizasyon) işlemidir. Bu bir **ZORUNLULUKTUR** !! İşlenmiş örneğin virus dışı patojenlerden arındırılması şu basamaklarda yapılır;

- Konsantre antibiyotik ilavesi (Pen, Strep, Kana)
- Filtrasyon (0.45-0.6 nm por çaplı selüloz asetat filtreler)
- Yüksek devirli santrifüj (15000-20000rpm)
- Yağ eriticilerle muamele

1. Organ Materyali

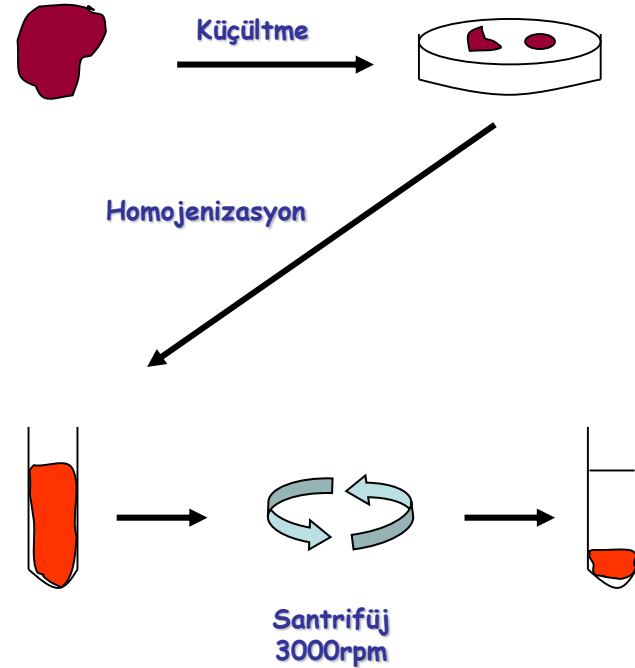


<http://www.lbah.com/word/feline/feline-infectious-peritonitis-fip/>



http://vertebrates.si.edu/birds/birds_tissuepolicy.html

- Organ yüzey dezenfeksiyonu
- Küçültme
- 1/10 oranında PBS içinde sulandırma ve homojenizasyon
- 3000rpm de santrifüj
- Üst kısım (süpernatant) alınır, antibiyotik ilavesi ile sterilizasyon
- Agara inokulasyon ve kontrol
- -80°C'de saklama veya hücre kültürüne inokulasyon

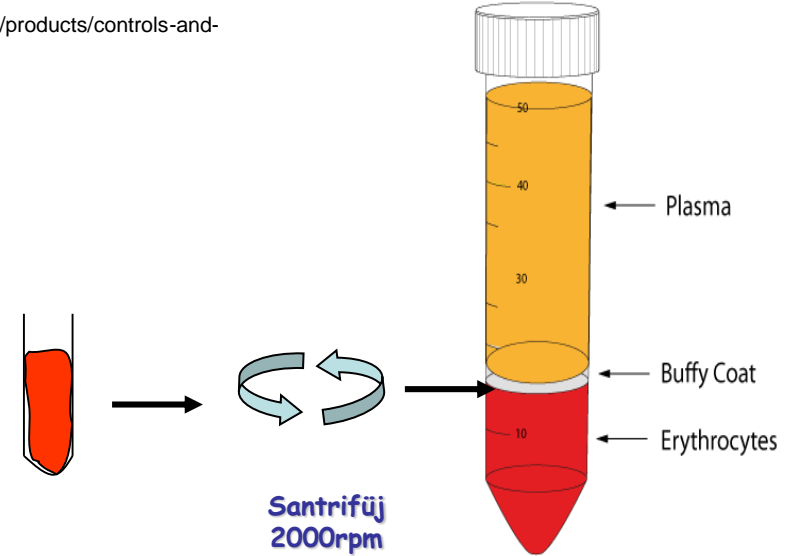


2. Kan (Virus İzolasyonu Amacıyla)

- Kan antikoagulanlı (EDTA vb.) tüpe alınır.
- 4°C'de 2000rpm de 10 dakika santrifüj edilir.
- Ortada oluşan LÖKOSİT tabakası kapiller pipet ile toplanır ve 2-3 ml PBS içinde resüspanse edilir.
- Aynı şartlarda santrifüj edilir.
- Lökositler tekrar toplanır. Bu işlem 2-3 kez tekrarlanır.
- Son yıkamadan alınan lökositler ya hemen hücreye inokule edilir yada cryopreservative madde (DMSO) konularak dondurulur.



<https://www.seracare.com/products/controls-and-reference-materials/>

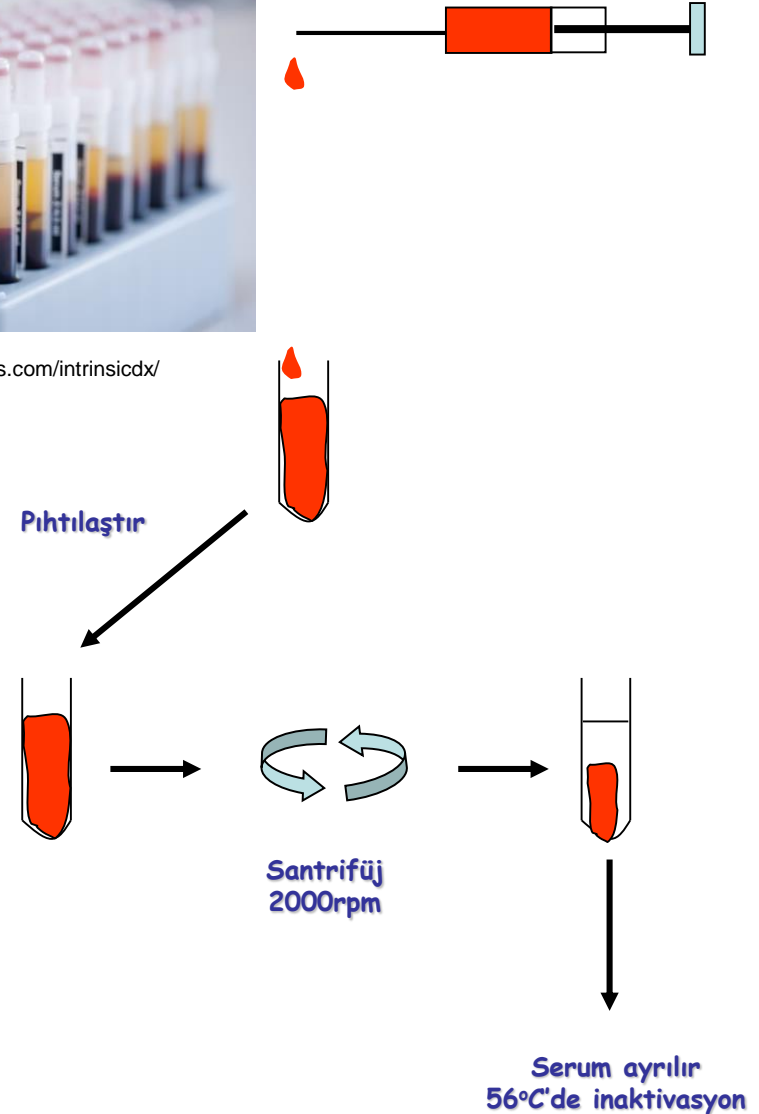


2. Kan (Serolojik Tanı Amacıyla)

- Katkısız cam veya KAOLIN içeren tüpe kan alınır.
- Pıhtılaşma sonrasında pıhtı bir tel ile tüp çeperinden ayrılır.
- 4°C'de 2000rpm de 10 dakika santrifüj edilir.
- Elde edilen serum temiz bir tüpe alınır.
- Kullanılmadan önce 56°C'de 30 dakika süreyle inaktive edilir.
- Testlerde kullanılmayacaksa -20°C'de dondurulur.



<http://www.intrinsiclifesciences.com/intrinsicdx/>



3. Dışkı



<http://www.medicaldaily.com/fresh-or-frozen-fecal-transplants-are-effective-combatting-c-difficile-infection-369108>



<http://www.livepathlab.com/facilities.php>

- Antibiyotikli PBS içinde 1/10 oranında sulandırma ve homojenizasyon.
- 3000rpm de santrifüj
- Üst kısım (süpernatant) alınır, antibiyotik ilavesi ile sterilizasyon
- Agara inokulasyon ve kontrol
- -80°C'de saklama veya hücre kültürüne inokulasyon

4. Swap (Sürüntü, eküvyon)

- 2-3 ml antibiyotikli PBS içinde laboratuvara gelen örnekler vortekslenir.
- Pamuk tüp çeperinde sıkılır ve pamuk atılır.
- Sıvı 3000rpm de 10 dakika santrifüj edilir.
- Antibiyotik ilave edilir ve sterilite kontrolü yapılır.
- Hücre kültürüne inokule edilir veya dondurulur.

<http://www.medicalexpo.com/prod/de/italab/product-68179-588407.html>



Taşıyıcı tüp

Swap çubuğu

Swap pamuğu

